



TITLE:

京都大学再生医科学研究所年報 2003

AUTHOR(S):

CITATION:

京都大学再生医科学研究所年報 2003. 京都大学再生医科学研究所年報
2004, 6

ISSUE DATE:

2004-03-25

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/50576>

RIGHT:

京都大学

再生医科学研究所年報（第六巻）

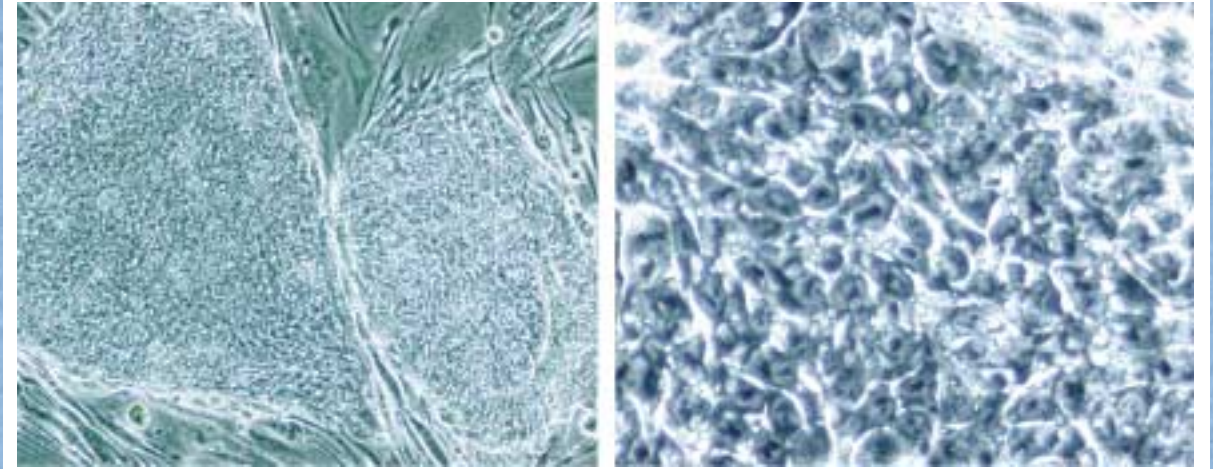
二〇〇三

京都大学

再生医科学研究所年報

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University

ヒトES細胞株 (KhES-1)



第6巻

2003

平成15年

表紙写真

ヒト ES 細胞株(KhES-1)

日本国内ではじめて樹立されたヒト胚性幹細胞 (embryonic stem cell) 株。

再生医科学研究所はヒト ES 細胞株の樹立研究機関として唯一認可を受けた研究機関である。慎重な手続きによるインフォームドコンセントに基づき凍結余剰胚の提供を受け、これまでに 3 株のヒト ES 細胞株を樹立した。これらの細胞株は ES 細胞の医療応用などの研究を行う研究機関に分配される。

目 次

1 . 巻頭言	1
2 . 京都大学再生医科学研究所概要	
2 - 1 沿革	2
2 - 2 教員数等	2
(1) 教員	2
(2) 大学院生・研修員・研究生等	2
2 - 3 組織図	3
3 . 研究概要と研究業績	
生体機能学研究部門	
細胞機能調節学分野	4
生体微細構造学分野	11
生体機能調節学分野	13
シミュレーション医工学分野	19
生体組織工学研究部門	
生体分子設計学分野	29
生体材料学分野	36
組織修復材料学分野	54
再生統御学研究部門	
発生分化研究分野	61
再生誘導研究分野	67
再生増殖制御学分野	69
再生免疫学分野	72
生体システム医工学研究部門	
生体機械工学分野	76
生体システム制御学分野	82
再生医学応用研究部門	
組織再生応用分野	86
器官形成応用分野	91
臓器再建応用分野	96
附属再生実験動物施設	105
附属幹細胞医学研究センター	
霊長類胚性幹細胞研究領域	109
幹細胞分化制御研究領域	112
技術部	117
4 . 学術集会	
4 - 1 再生医科学研究所学術講演会	119
4 - 2 セミナー	120
4 - 3 研究発表会	122
4 - 4 学術講演会・シンポジウム・研究会	124
5 . 協議員・教職員名簿	126

1. 巻 頭 言

再生医科学研究所が「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的として平成10年4月に設置されてから5年以上が経過しました。この間に、生体組織や細胞がもつ修復再生能力を活用する新たな治療法としての再生医療および再生医学に関する研究が国内外で注目されています。その発展には生命科学、医学と工学を統合した研究が不可欠であり、多様な学問分野から育った研究者が共に研究を進め交流する研究所となることを目指してきました。

平成15年4月から所長職を引き受けさせて頂くことになりましたが、山岡義生前所長が成し遂げた再生研の基盤づくりを引き継ぐとともに、今後一層の発展を目指す責務を感じています。再生医学の基礎と応用研究という研究所のミッションを明確にするため、各々の研究グループが果たすべき役割を、再生医学基盤研究、幹細胞研究、組織工学研究、医工学研究の4本柱に整理したうえで、各柱の発展ならびに共同研究を発展させたいと考えています。

平成15年をふりかえると、医学研究科・医学部附属病院と共同で申請を行った、21世紀COEプログラム「融合的移植再生治療を目指す国際拠点形成」が採択され、再生医学の基礎研究と臨床応用の拠点形成事業が始まりました。研究所の人事に関しては次の異動がありました。生体微細構造学分野の鈴木康弘教授の定年退官、再生誘導研究分野の笹井芳樹教授が理化学研究所発生・再生科学総合研究センターグループディレクター専任となるため辞職、附属幹細胞医学研究センター・幹細胞分化制御領域助教授に山下潤氏が着任、岡本貞夫前事務長の定年退官と川端昭男新事務長の着任。

国立大学は現在大きな変革の渦中にあり、社会の中で果たすべき役割を問われています。しかしながら、時代の風潮に翻弄される短期的目的指向では、大学の真の役割は果たせないことも明らかです。私どもの再生研は再生医学の基礎と応用研究という明確な目的をもつ研究所ではありますが、数十年後に振り返ったとき、後の時代の生命医科学の発展のために大きな役割を果たし、真に社会に貢献したと評価される研究所になりたいと考えています。引き続き皆様のご支援とご助言を宜しく申し上げます。

平成16年1月

所 長 中 辻 憲 夫

2．京都大学再生医科学研究所概要

2 - 1 沿 革

本研究所は、平成10年4月9日に設置された。その前身である胸部疾患研究所は、昭和16年3月に「結核の予防及び治療」を主軸とする結核研究所として設置され、昭和42年6月には結核胸部疾患研究所に名称変更、さらに昭和63年4月には「胸部疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とした胸部疾患研究所への全面改組が行われたが、胸部疾患に関する研究・治療を取り巻く社会的要請の変化から、胸部疾患研究所は57年間にわたる使命を終え、平成10年度より、同研究所基礎系分野及び臨床系分野の一部を人工臓器の研究・開発に関して顕著な業績を挙げて来た生体医療工学研究センターと統合し、さらに実地臨床医学を行う医学研究科との協力により、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的とする再生医科学研究所に改組・転換された。

改組・転換に伴い、胸部疾患研究所の臨床系分野の一部と研究所附属病院は、大学院医学研究科・医学部並びに医学部附属病院へそれぞれ引き継がれた。

本研究所は、生体機能学、生体組織工学、再生統御学、生体システム医工学、再生医学応用の5大研究部門（19研究分野、3客員分野）と附属再生実験動物施設、附属幹細胞医学研究センターで組織され、疾患によって侵された臓器や組織を自己組織の再生過程を通じて構築された新たな組織と入れ換える再生医科学の開発を目指している。

2 - 2 教 員 数 等

(1) 教 員 （平成16年1月1日現在）

区 分	教 授	助 教 授	助 手	計
定 員	18 (2) 1	19 (1)	4	41 (3) 1

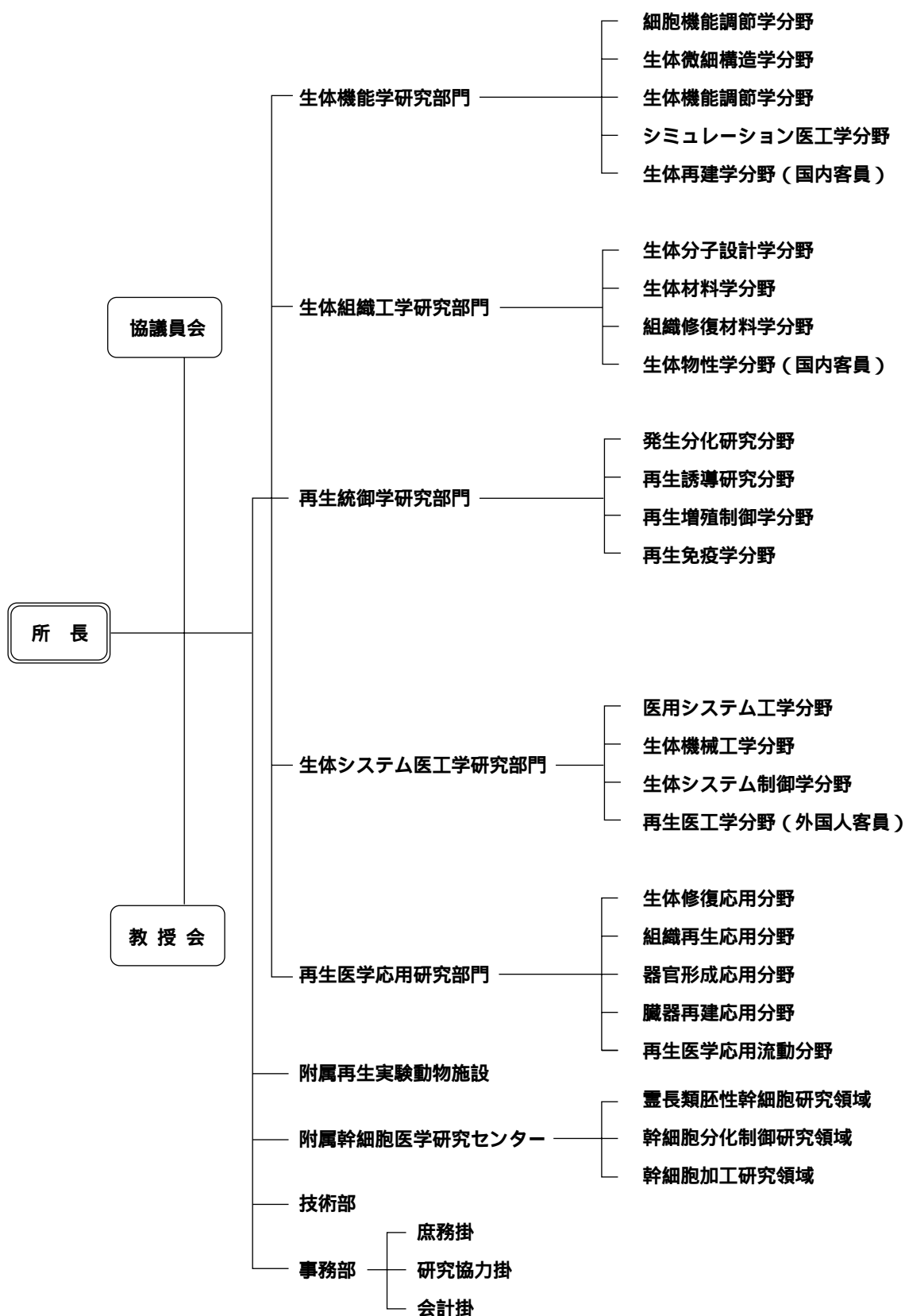
() は国内客員で外数

は外国人客員で外数

(2) 大学院生・研修員・研究生 （平成16年1月1日現在）

大 学 院 生	研 修 員	研 究 生	外国人共同研究者等
66	8	17	3

2 - 3 組 織 図



3. 研究概要と研究業績

生体機能学研究部門

細胞機能調節学分野

Department of Molecular and Cellular Biology

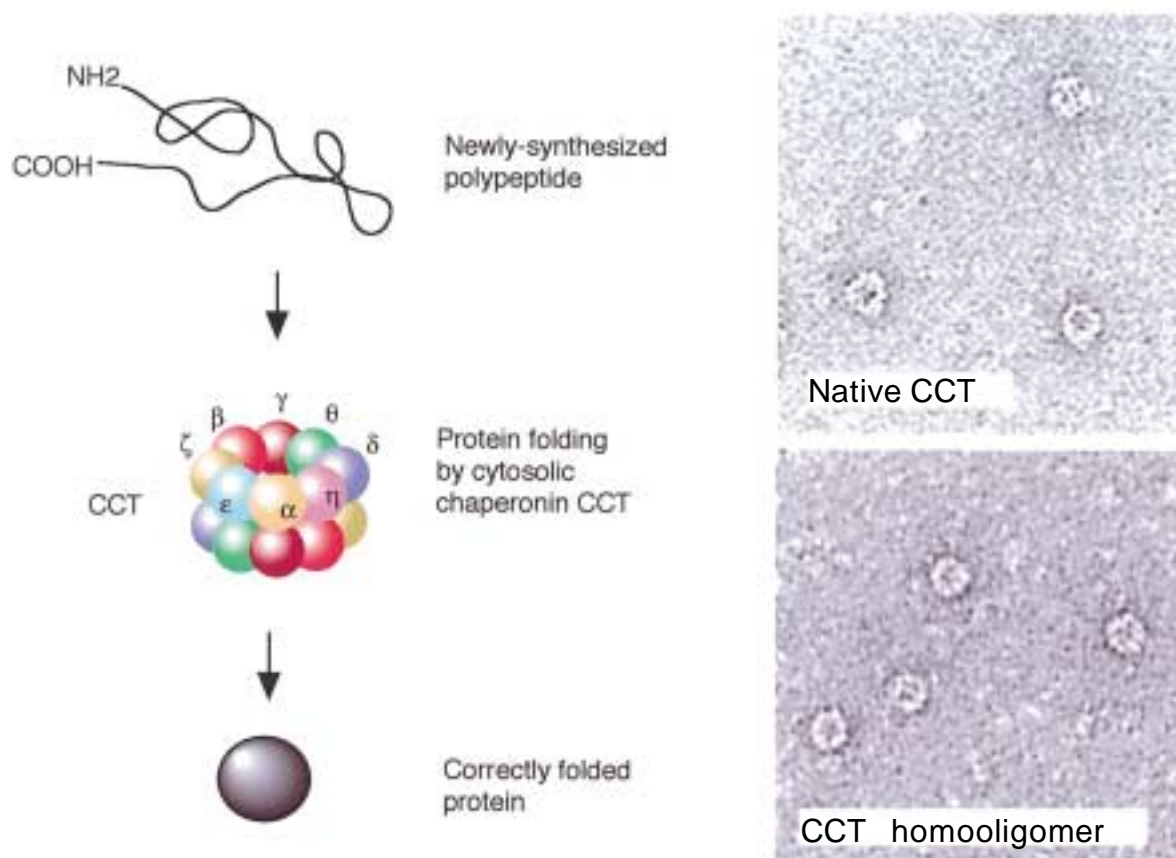
分野主任 教授 永田 和宏

Prof. Kazuhiro Nagata

【研究概要】

細胞機能調節学分野では、分子シャペロンの機能解析を中心に、再生現象の分子基盤とも言うべきタンパク質の合成・再生・品質管理の機構について、具体的には以下の3つの大きなテーマに添って、研究を進めている。

第1のテーマは、小胞体における productive folding に関する研究であり、コラーゲン特定の分子シャペロン HSP 47 の機能解析を中心に研究を進めている。HSP47 はコラーゲンの正常な合成・分泌にとって必須の分子シャペロ



細胞質シャペロニン CCT の分子シャペロン機能（左）と構造（右）
組織より精製した CCT ヘテロオリゴマー（右上）と、大腸菌リコンビナントとして精製した CCT_ε サブユニットホモオリゴマー（右下）の電子顕微鏡写真

ンであることを明らかにしてきたが、HSP47 は組織の繊維化にとっても重要な寄与をしている。HSP47 の発現を抑制することによって繊維化の進行を遅らせることができるというデータから、HSP47 の抑制を介した繊維化疾患の治療戦略が考えられている。本年度は HSP47 ノックアウトマウスを用いて、基底膜形成の障害がどのようにして起こるかについて研究を進めた。昨年の研究より、HSP47 null mouse では、type IV collagen の 3 本鎖形成に異常が起こり、分泌速度が遅くなっていることを、ES 細胞および embryoid body を用いた研究より明らかにしたが、組織レベルでも同様に、基底膜への type IV collagen の蓄積が見られなかった。一方他の基底膜成分である laminin や nidogen の基底膜への蓄積は、9.5 日齢の embryo では正常に見られたことから、type IV collagen の蓄積そのものは基底膜の形成には必須ではないことが明らかになった。ところが 10.5 日齢の embryo では基底膜が断裂してしまう。これは type IV collagen meshwork による基底膜の補強がなければ、基底膜が強度を獲得できず 9.5 日目から 10.5 日目にかけての劇的な形態形成の時期に、その大きな組織の変化に耐えられずに断裂してしまう結果であることが明らかになった。そのような embryo では、type IV collagen が細胞内の小胞体に蓄積していること、また全身的なアポトーシスが起きていることも明らかになり、HSP47 は type IV collagen の正常な合成・分泌を通じて、基底膜の維持に必須であり、HSP47 を欠損すると細胞はアポトーシスを引き起こし、胎児が 10.5 日目以降死んでしまうのであることが示唆された。

(文責・永田)

第 2 のテーマとして、小胞体品質管理、小胞体関連分解(ERAD)に関して、私たちがクローニングしたマウス EDEM タンパク質を中心に研究を進めている。小胞体内に蓄積した異常タンパク質(正しくフォールドしなかったタンパク質)は、小胞体からサイトソルに引き出されてプロテアソームによって分解され、この機構は ERAD と呼ばれている。マウス EDEM タンパク質は、糖タンパク質の ERAD に関わる重要な molecule であると考えられる。私たちは、EDEM は、正しくフォールドしたタンパク質には結合せず、分泌にも影響を与えないが、ミスフォールドした糖タンパク質には結合して、分解を促進することを明らかにした。小胞体内でミスフォールドしたタンパク質と結合することによって、これらのタンパク質が aggregation を作るのを阻害する、いわゆる分子シャペロンの機能をもつのではないかと考えている。今後は、EDEM ホモログタンパク質の機能解析、in vitro での機能解析系の確立に力を入れたい。

(文責・細川)

3 番目のテーマとして、細胞質シャペロニン CCT のサブユニットをコードする遺伝子群に関して転写解析を進めている。まず、Cctq 遺伝子の転写が Elk-1 ファミリーの転写因子群によって調節を受け、Ras/MAPK 経路の制御下にあることを明らかにした。さらに、Cctd 遺伝子の転写は CREB/ATF および Smad ファミリーの転写因子の調節を受け、これも MAPK 経路の制御下にあることを見いだした。既に解析済みの Ccta 遺伝子の結果と合わせると、これらの遺伝子は全て MAPK 経路を経て細胞増殖依存的な制御を受けているものと考えられる。また β 種類ある CCT サブユニットのそれぞれを大腸菌で発現させ、可溶性タンパク質として回収することに成功した。それぞれホモオリゴマーを作っており、特に ϵ サブユニットでは、リング構造が観察された。各サブユニットはそれぞれに集合体を形成しやすい性質があると考えられる。牛精巣からも CCT の精製に成功しており、これらを用いて CCT の機能解析をさらに進めたい。これとは別に、CCT に弱いながらもホモロジーをもつ Mckusick-Kaufman syndrome タンパク質の解析にも着手し、シャペロニン様の構造をもつこと明らかにすると共に、分子シャペロンとしての機能を持つことを示唆する結果を得た。発生異常をおこす Mckusick-Kaufman syndrome の症状との関連についてさらに解析を進めたい。

(文責・久保田)

The major focus in the Department of Molecular and Cellular Biology is to study the stress response and the regulation and function of molecular chaperone/stress proteins. We are working mainly on three topics in this field.

We found and cloned the gene of a novel stress protein HSP47 which resides in the endoplasmic reticulum (ER) acting as a collagen-specific molecular chaperone in the pathway of collagen biosynthesis, processing and secretion. HSP47 specifically and transiently binds to various types of collagen in the ER. In addition to the binding specificity to collagen, the expression of HSP47 is always closely correlated with those of collagens during the normal development of mouse embryo as well as in the pathophysiological conditions including liver and renal fibrosis.

We already succeeded in making knockout mice lacking *hsp47* gene, which resulted in causing the embryonic lethality at 10.5 dpc in *hsp47*^{-/-} homozygotic mice. In these homozygotic mice, the maturation of type I collagen was abnormal and the immature form of procollagen accumulated in the tissues. Using *hsp47*^{-/-} ES cells, we found this year that type IV collagen secreted from *hsp47*-null cells could not form correct triple helices and the basement membrane was not formed in the embryoid bodies from those cells. We also observed the impairment of basement membrane formation in mouse embryos, thus these findings reveal that the knockout of a chaperone protein HSP47 causes the abnormality in molecular maturation of its substrate, and HSP47 is essential for mouse normal development. In those knockout mice, type IV collagen was observed to accumulate in the ER causing an ER stress, and apoptosis was also observed in those embryos after 10.5 dpc.

(By K. Nagata)

Another project which we are working on is ER(endoplasmic reticulum)quality control and ERAD (ER associated degradation). We have cloned a mouse gene EDEM, and we have recently found that EDEM does not bind nor affect the secretion of correctly folded protein, but that it binds and accelerates the ERAD of terminally misfolded glycoprotein. Now we propose a model that EDEM acts like a molecular chaperone which discriminates correctly folded proteins from misfolded glycoproteins and that EDEM inhibits the aggregation formation of misfolded proteins. Our research is now on the functional analysis of EDEM homologue proteins, as well as the establishment of *in vitro* assay system for the analysis of EDEM proteins.

(By N. Hosokawa)

The chaperonin containing t-complex polypeptide 1 (CCT) is a molecular chaperone that facilitates protein folding in eukaryotic cytosol, and the expression of CCT is highly dependent on cell growth. We found that transcription of the gene encoding the θ subunit of mouse CCT, *Cctq*, is regulated by Elk-1, Sap-1a and Net. We also analyzed *Cctd* gene transcription and found that this gene is regulated by CREB/ATF and Smad family transcription factors. Taken together with our previous results of *Ccta* gene transcription, expression of CCT subunit genes seem to be regulated by Ras/MAPK pathway in response to growth factors. Next, we purified each CCT subunit species as soluble high molecular weight complexes using a combination of *E. coli* recombinant protein expression system and column chromatography. Electron microscopic analysis of the purified CCT subunits indicated that one of the CCT subunits, CCT ϵ , can produce a homo-oligomeric complex with double-ring structure. As we succeeded to purify bovine testis CCT, we now focus our project on functional analyses. In addition, we started to analyze Mckusick-Kaufman syndrome protein. The data obtained indicate that this protein has a chaperonin-like structure, and suggest that function as a molecular chaperone. We are investigating relationship between developmental defects in Mckusick-Kaufman syndrome and function of this protein.

(By H. Kubota)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Nozaki, J., Kubota, H., Yoshida, H., Naitoh, M., Goji, J., Yoshinaga, T., Mori, K., Koizumi, A., Nagata, K.: The endoplasmic reticulum stress response is stimulated through the continuous activation of transcription factors ATF6 and XBP1 in *Ins2^{+/-Akita}* pancreatic β cells. *Genes Cells* (in press) 2004
- Ido, H., Harada, K., Futaki, S., Hayashi, Y., Nishiuchi, R., Natsuka, Y., Li, S., Wada, Y., Combs, AC, Ervasti, JM & Sekiguchi, K.: Molecular dissection of the alpha -dystroglycan- and integrin-binding sites within the globular domain of human laminin-10. *J. Biol. Chem.* (in press) 2004
- Hosokawa, N., Tremblay, L. O., You, Z., Herscovics, A., Wada, I. & Nagata, K.: Enhancement of endoplasmic reticulum(ER) degradation of misfolded null Hong Kong α 1-antitrypsin by human ER mannosidase I. *J. Biol. Chem.* **278**(28): 26287-26294(2003)
- Oda, Y., Hosokawa, N., I, Wada., Nagata, K.: EDEM as an acceptor of terminally misfolded glycoproteins released from calnexin. *Science* **299**(5611): 1394-1397(2003)
- Yamazaki, Y., Kubota, H., Nozaki, M., & Nagata, K.: Transcriptional regulation of the cytosolic chaperonin θ subunit gene, Cctq, by Ets domain transcription factors Elk-1, Sap-1a, and net in the absence of serum response factor. *J. Biol. Chem.* **278**(33): 30642-30651(2003)
- Yoshida, H., Matsui, T., Hosokawa, N., Kaufman, R. J., Nagata, K. & Mori, K.: A time-dependent phase shift in the mammalian unfolded protein response. *Develop. Cell.* **4**(2): 265-271(2003)
- Yokota, S., Kubota, H., Matsuoka, Y., Naitoh, M., Hirata, D., Minota, S., Takahashi, H., Fujii, N. & Nagata, K.: Prevalence of HSP47 antigen and autoantibodies to HSP47 in the sera of patients with mixed connective tissue disease. *Biochem Biophys Res Commun.* **303**: 413-418(2003)
- Yasui, N., Mari, T., Morito, D., Matsushita, O., Kourai, H., Nagata, K. & Koide, T.: Dual-site recognition of different extracellular matrix components by anti-angiogenic / neurotrophic serpin, PEDF. *Biochemistry* **42**(11): 3160-3167(2003)
- Homma, T., Iwahashi, H. and Komatsu, Y.: Yeast gene expression during growth at low temperature. *Cryobiology.* **46**, 230-237(2003)

2) 著書および総説

- 永田和宏：タンパク質の品質管理と細胞の危機管理．蛋白質核酸酵素(in press) 2004
- 細川暢子：小胞体タンパク質品質管理と ERAD・EDEM 分子は糖タンパク質の ERAD を促進する．蛋白質核酸酵素(in press) 2004
- 久保田広志，永田和宏：蛋白質のフォールディング監視機構．神経研究の進歩(in press) 2004
- 久保田広志：細胞質シャペロニン CCT - 最も複雑なシャペロン？ - ．蛋白質核酸酵素(in press) 2004
- Nagata, K.: HSP47 as a collagen-specific molecular chaperone: function and expression in normal mouse development. *Seminars in Cell and Developmental Biology* **14**: 275-282(2003)
- 永田和宏，宮坂昌之，宮坂信之，山本和彦編集 分子生物学・免疫学キーワード辞典(第2版)．医学書院(2003)

永田和宏：小胞体における蛋白質の品質管理戦略．第 26 回日本医学会総会誌[1]：9(2003)

永田和宏：タンパク質の品質管理とその破綻．実験医学増刊号「細胞内輸送研究の最前線」Vol.21, No.14：205-213 (2003)

永田和宏：基底膜がないっ！細胞工学「1枚の写真館」Vol.22, No.8(2003)

永田和宏：コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 と繊維化疾患治療戦略．日本薬理学雑誌 121, pp4-14(2003)

細川暢子，永田和宏：EDEM による品質管理機構．生化学 第 75 巻第 6 号：512-519(2003)

細川暢子，永田和宏：小胞体でつくられたタンパク質の運命．実験医学 Vol.21, No7：892-897(2003)

久保田広志：細胞質シャペロニン CCT と細胞増殖．臨床化学 Vol.32, No.2：139-146(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

久保田広志，永田和宏：マウス細胞質シャペロニンのデルタサブユニットをコードする遺伝子 Cctd の転写調節機構．第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.15. 大津市)

久保田広志，山崎裕自，安永卓生，北村朗，吉田尊雄，永田和宏：Mckusick-Kaufman syndrome タンパク質の生化学的解析．第 8 回臨床ストレス蛋白質研究会(200.11.28. 徳島市)

久保田広志，永田和宏：細胞質シャペロニンデルタサブユニット遺伝子 Cctd の発現調節を担う転写因子群の解析．第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.13. 神戸市)

吉田尊雄，久保田広志，永田和宏：細胞質シャペロニン CCT の組換え体サブユニット機能解析．第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.13. 神戸市)

丸谷寿裕，山本章嗣，久保田広志，永井尚子，永田和宏：HSP47 ノックアウトマウス胚における IV 型コラーゲンの小胞体内蓄積と基底膜形成不全．第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.14. 大津市)

Marutani, T., Yamamoto, A., Kubota, H., Nagai, N. & Nagata, K.: Hsp47 knockout mouse has no type IV collagen in basement membranes: accumulation in endoplasmic reticulum. 5th Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium(2003.6.6. Ube)

丸谷寿裕，山本章嗣，永井尚子，久保田広志，永田和宏：HSP47 ノックアウトマウスにおける IV 型コラーゲンの小胞体内保留による基底膜形成不全．第 8 回臨床ストレス蛋白質研究会(200.11.28. 徳島市)

小田裕香子，細川暢子，和田郁夫，永田和宏：ERAD における EDEM と calnexin の機能解析．第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.15. 大津市)

平尾和義，森戸大介，長束優子，細川暢子，林崎良英，永田和宏：EDEM に相同性を持つ小胞体内可溶性蛋白質の機能解析．第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.15. 大津市)

山崎裕自，久保田広志，野崎正美，永田和宏：細胞質シャペロニンシータサブユニットをコードする Cctq 遺伝子の Ets family protein(Elk-1, Sap-1a, Net)による転写制御．第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.15. 大津市)

山崎裕自，北村朗，吉田尊雄，久保田広志，永田和宏：発生異常をおこすシャペロニン様タンパク質 MKKSP の分子生物学的解析．第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.13. 神戸市)

安井典久，森輝実，森戸大介，松下治，高麗寛紀，永田和宏，小出隆規：血管新生阻害活性と神経分化・栄養活性を有する色素上皮由来因子(PEDF)の細胞外マトリックス結合様式の解析．第 50 回マトリックス研究会記

念大会(2003.3.21. 神奈川県三浦郡葉山町)

松居利江, 吉田秀郎, 細川暢子, 永田和宏, 森和俊: 哺乳動物小胞体ストレス応答に關与する IRE1-XBP1 経路の解析. 第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.15. 大津市)

吉岡寿麻子, 迎寛, 杉山奏子, 角川智之, 坂本憲穂, 中山聖子, 久保田広志, 永田和宏, 河野茂: 肺線維症における α -デフェンシンの関与と HSP47 の発現. 第 8 回臨床ストレス蛋白質研究会(200.11.28. 徳島市)

Oguro, A., Sakurai, T., Otawa, M., Nagata, K. & Atomi, Y.: Collagen specific molecular chaperone Hsp47 changes corresponding to gravity/mechanical stress in rat skeletal muscle. 43rd American Society for Cell Biology Annual Meeting(2003.12.13-17 San Francisco, USA)

小谷峰, 石藤恵美, 本間貴之, 岡修一, 岩橋均: 酵母の減圧ショック応答. 日本農芸化学会 2003 年度大会(2003.4.2. 藤沢)

Kim, H., Suzuki, Y., Momose, Y., Kitagawa, E., Homma, T., Shirisatta, S., Kurita, S., Kojima, E., Meher, S., Kimura, S., Takahashi, J. and Iwahashi, H.: Transcriptome Profile and Cluster Analysis of *Saccharomyces cerevisiae* under Environmental Stress Conditions. 1st International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine (2003.9.11. Quebec, Canada)

2) 講演・シンポジウム

永田和宏: コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 と基底膜形成. 大分医科大学セミナー(2003.1.31. 大分市)

永田和宏: 分子からアプローチする細胞機能制御. 京都大学医工薬連携形成ワークショップ「活動長寿を目指す生体機能の時空ナノ制御学の確率」(2003.3.7. 京都市)

永田和宏: 小胞体における蛋白質の品質管理戦略. 第 26 回日本医学会総会シンポジウム「細胞内情報伝達・分子細胞医学」(2003.4.4. 福岡市)

永田和宏: 分子シャペロンによる細胞機能制御. 九州大学大学院理学研究院セミナー(2003.4.25. 福岡市)

Nagata, K., Matsuoka, Y., Marutani, T. & Kubota, H.: HSP47: as a key molecule for molecular maturation of procollagen. 5th Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium(2003.6.6. Ube)

永田和宏: 小胞体品質管理機構と ERAD・EDEM. 第 7 回バイオストレス・レドックス[融合]セミナー(2003.6.13. 池田市)

Nagata, K.: Quality Control Mechanism of the Unfolded Proteins in ER. The 7th International Congress(Genes, Gene Families and Isozymes)(2003.7.20. Berlin, Germany)

Nagata, K.: HSP47 is essential for the molecular maturation of collagens and the formation of basement membranes. Gordon Research Conferences(Collagen)(2003.7.29. New London, USA)

Oda, Y., Hosokawa, N. & Nagata, K.: EDEM cooperates with calnexin in the ER associated degradation of unfolded proteins. EURESCO Conferences(Biology of Molecular Chaperones)(2003.9.1. Tomar, Portugal)

Nagata, K.: EDEM as one of key molecules in ER-associated degradation. Institute for Research in Biomedicine Seminar, Bellinzona(2003.9.5. Switzerland)

Nagata, K., Oda, Y., Hirao, K. & Hosokawa, N.: Possible functions of EDEM in the ERAD of terminally misfolded proteins. 1st International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine(2003.9.11. Quebec, Canada)

永田和宏: タンパク質の folding, folding 異常と品質管理. 鳥取大学大学院医学研究科機能再生医科学専攻設置記念

シンポジウム(2003.10.5. 米子市)

永田和宏：小胞体におけるタンパク質の folding と品質管理．京都大学再生医科学研究所開所 5 周年シンポジウム
(2003.10.6. 京都市)

永田和宏：小胞体分子シャペロン：タンパク質の folding から品質管理まで(Protein quality control in the
endoplasmic reticulum)．第 76 回日本生化学会大会マスターズレクチャー(2003.10.17. 横浜市)

Nagata, K. : ER associated degradation and EDEM . 第 76 回日本生化学会大会シンポジウム「細胞機能の発現と調
節」(2003.10.18. 横浜市)

Nagata, K. : ER-associated degradation : Possible function of EDEM. 10th Congress of the Federation of Asian and
Oceanic Biochemists and Molecular Biologists(2003.12.9. Bangalore,India)

永田和宏：小胞体における Protein Folding と分解．日本薬学会北陸支部特別講演会(2003.12.19. 金沢市)

細川暢子, 和田郁夫, 長束優子, 永田和宏：小胞体品質管理に関わる EDEM 蛋白質の機能解析．第 56 回日本細
胞生物学会大会ワークショップ「タンパク質：生と死の生物学」(2003.5.16. 大津市)

細川暢子：糖タンパク質の小胞体関連分解．「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」第 1 回夏期シンポ
ジウム(2003.8.21. 浜松市)

細川暢子：糖タンパク質の小胞体関連分解．平成 15 年度生化学会近畿支部シンポジウム「細胞内品質管理のダイ
ナミズム」(2003.11.21. 京都市)

Hosokawa, N. & Nagata, K. : ER Degradation of Glycoproteins . 第 26 回日本分子生物学会年会シンポジウム「糖鎖
細胞生物学の新展開 - “ あいまいさ ” を越えて -(2003.12.11. 神戸市)

細川暢子：糖タンパク質の小胞体関連分解．第 7 回理研シンポジウム「生体分子の化学」(2003.12.18. 和光市)

Kubota, H., Yokota, Y., Matsuoka, Y., Marutani, T. & Nagata, K. : Prevalence of HSP47 antigen and autoantibodies
against HSP47 in the sera of patients with mixed connective tissue disease. 1st International Congress on Stress
Responses in Biology and Medicine(2003.9.13. Quebec, Canada)

松岡泰弘, 久保田広志, 安達栄治郎, 永井尚子, 細川暢子, 永田和宏：マウス Hsp47 ノックアウト胚様体におけ
る IV 型コラーゲンの分子構造異常及び基底膜の形成不全．第 56 回日本細胞生物学会大会ワークショップ
「タンパク質：生と死の生物学」(2003.5.16. 大津市)

Matsuoka, Y., Adachi, E., Nagai, N., Hosokawa, H., Kubota, H. & Nagata, K. : Impairment of basement membrane
formation in embryoid bodies lacking the gene of *hsp47* due to the maturation of typeIV collagen . 第 11 回国
際基底膜シンポジウム(2003.3.6. 木更津市)

本間貴之：高圧生理のトランスクリプトーム解析．日本農芸化学会 2003 年度大会シンポジウム(2003.4.3 藤沢市)

野崎潤一, 久保田広志, 吉田秀郎, 内藤素子, 吉永侃夫, 森和俊, 小泉昭夫, 永田和宏：アキタマウス β 細胞株
における転写因子 ATF6 及び XBP1 活性化を介した小胞体シャペロンの誘導．第 56 回日本細胞生物学会大
会ワークショップ「病気と細胞生物学」(2003.5.15. 大津市)

吉田秀郎, 松居利江, 細川暢子, 永田和宏, 森和俊：小胞体ストレスに対する多段階的防御戦略．第 56 回日本細
胞生物学会大会ワークショップ「タンパク質：生と死の生物学」(2003.5.16. 大津市)

Ido H., Li S., Natsuka Y., Combs A., Ervasti JM., Futaki S., Kim KH., Shimono C., Hayashi Y., Sekiguchi K. : Laminin-
10 binds to α -dystroglycan and heparin through its LG4 subdomain . 第 11 回国際基底膜シンポジウム(2003.3.5
-7. 木更津市)

生体微細構造学分野

Department of Ultrastructural Research

分野主任 講師 平芳 一法

Lect. Kazunori Hirayosi

【研究概要】

当研究室の教授であった鈴木康弘先生の定年退官に伴い、主たる研究を、肺に関する生理学的な研究から転写機構の解析に移行した。転写は生命現象の基盤であり、多くの研究者がその解析に情熱を注いできたが、未だに未知の部分が多い。転写制御の研究は、遺伝子特異的な発現制御機構の解析と基本転写と呼ばれる全ての遺伝子の発現に共通の制御機構の解析に分けることができる。我々は基本転写機構の解析をその複合体の解析という観点から展開している。研究の出発点として基本転写因子の中でも鋳型 DNA への足場として転写の開始に重要な働きを示す TBP(TATA Binding Protein)を選び、機能 RNA 分子である RNA アプタマーを応用することで、TBP を核とする転写複合体の構造と機能の解析を行っている。TBP の特徴的な構造である鞍状構造の凹凸部それぞれに特異的に結

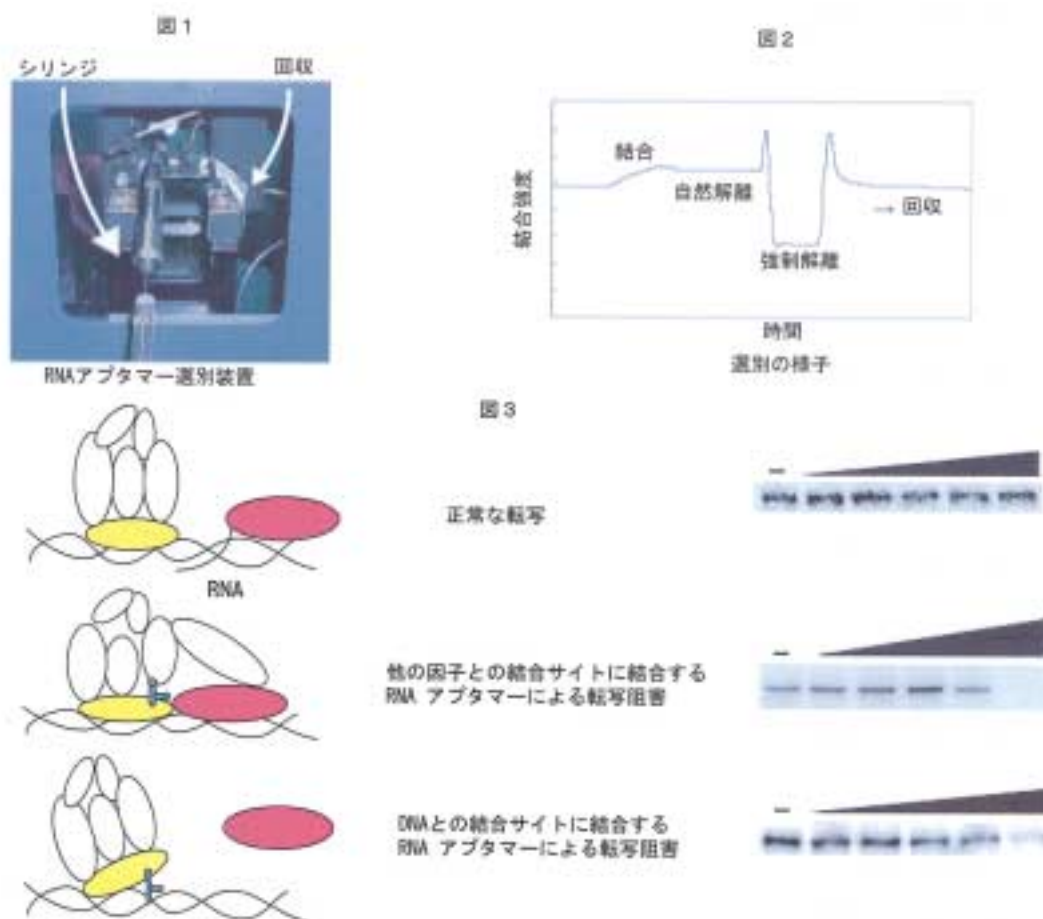


図 1: SPR を用いた RNA 選別装置の一部。

図 2: 上の装置を用いて実際に RNA アプタマーを選別したときのプロファイル。

図 3: 選別した RNA アプタマーの影響を in vitro 転写系で解析したもの。想定される阻害は青で示したアプタマーが TBP (黄色) の他因子との結合サイトあるいは DNA との結合サイトに結合することにより RNA polymerase の伸展の阻害あるいは転写部位への結合を阻害するものと思われる。

合するアプタマーを取得し、各アプタマーの結合様式と作用様式の解析を行った。凹部に結合するものは、TBP が DNA 上の TATA 配列を認識して結合する事を阻害し、転写を抑制した。凸部に結合するものは TBP に結合する他の因子との結合を阻害すること、また TBP の全体のコンフォメーションにも影響を与えることを明らかにした。試験管内転写の結果からこのタイプのアプタマーは、転写の抑制のみでなく、促進をも示すという興味ある結果を得た。さらに遺伝子によって違う影響を受けることが認められた。TBP の convex surface (側凸部) に結合するもののみが多岐にわたる作用を示す事から TBP を核とする転写複合体中の他の基本転写因子との関係が転写制御の上で重要な働きをしているものと考えられる。この結果は、転写複合体の中には基本転写の組み合わせにより遺伝子特異的な発現を制御するシステムが存在し、転写制御を考える上で新たな制御機構を予見させるものである。現在複合体中に含まれる因子の同定と構造学的な解析を行うため、共同研究でアプタマー存在下での TBP の結晶構造解析を行い、その結合部位の同定を進めている。

裸の DNA を鋳型とする試験管内の解析からスタートした転写機構の解析も、クロマチン構造をとった、より生理的な状態に近い DNA を鋳型とする解析へ、さらには核の構造と結びつけて考える段階に移行しつつある。生きた細胞内での転写機構を解析する有効な方法がない現状で、我々の研究は細胞内の転写因子間の相互作用を *in vivo* で解析する新しい方法として期待されている。

研究用ツールとして使用したアプタマーの有用性から、治療薬、検査用試薬への応用を考え、数種のタンパク質に対して、アプタマーの取得を試みている。同時に今後の生産性の向上を目指し、方法として取得方法の改良及び適した機械の開発、測定方法の改良を行っている。

Our laboratory changed our main research from the analyses of alveolar epithelial cell function in the repair of lung damage to the studies on the mechanism of transcription, because of the retirement of professor Yasuhiro Suzuki.

For the total understanding of transcription, we introduced RNA aptamers as a new analysis tool to investigate the architecture of transcription complex. Control over interactions between proteins in the complex is critical to *in vivo* study, but the required specificity may not be easily incorporated into small molecules that constitute the majority of drugs currently in use. Bio-macromolecule-derived reagents may be more suitable as antagonists in this situation, and RNA aptamers have become an especially promising choice. We isolated the sub-molecular specific RNA aptamers against a protein that constitutes a single structural domain, the Drosophila TATA-binding protein (TBP). TBP is a critical molecule on the transcription of eukaryotic cells. Aptamers from the two groups can bind simultaneously to the concave and the convex sides of the target and disrupt the interactions of TBP with either the TATA-DNA or other protein factors. The method used to generate these two groups of aptamers can be used with other targets to direct aptamer specificity to discrete sites on the surface of a protein. To clarify the binding manner of aptamer and TBP, crystallographic study is going as collaboration research.

For expanding the application of RNA aptamer as a cure drug or examination reagent, we tried to identify the RNA aptamer against other proteins incorporated into disease development and developing new tool for effective selection of RNA aptamer.

【業績目録】

◆ 学会等の発表 ◆

法邑賢一・平芳一法：RNA アプタマーを用いた転写機構の解析．日本細胞生物学会第 56 回年会(2003.5.14. 16．大津)

法邑賢一・平芳一法：RNA アプタマーを用いた転写調節機構の解析．日本分子生物学会第 26 回年会(2003.12.10 13．神戸)

生体機能調節学分野 Department of Experimental Pathology

分野主任 教授 坂口 志文

Prof. Shimon Sakaguchi

【研究概要】

(1) 免疫寛容の基礎的研究

正常な免疫系は、非自己抗原に対して免疫応答を示すが、正常自己構成成分に対しては応答しない。このような免疫自己寛容の基礎的メカニズム、およびその破綻としての自己免疫病の原因・発症機構を研究している。これまでに、制御性 T 細胞が自己反応性 T 細胞の制御に重要であり、その機能異常により自己免疫病が発症しうることを示した。現在、制御性 T 細胞の発生・分化機構、またその制御機構の分子的基盤を解析している。本年度、制御性 T 細胞の発生・分化に、Foxp3 遺伝子が鍵を握る可能性を見出した。Foxp3 遺伝子は、正常個体中に自然状態で存在する制御性 T 細胞に選択的に発現している。また、レトロウイルスベクターに Foxp3 遺伝子を組み込み、抗原未感作の正常マウス T 細胞に感染させ Foxp3 を強制的に発現させると、感染 T 細胞は制御性 T 細胞に転換した。このようにして調製した制御性 T 細胞の生体投与により、自己免疫病、炎症性疾患(例えば炎症性腸疾患)の発症を抑制可能であることを示した。

(2) 腫瘍免疫、移植免疫の基礎的研究

癌患者の腫瘍反応性リンパ球が認識する腫瘍抗原の多くは正常自己抗原である。即ち、腫瘍免疫の一部は自己免疫と捉えることができる。現在までに、制御性 T 細胞(上述)に特異的モノクローナル抗体の生体内投与により、制御性 T 細胞を一定期間除去すれば自家腫瘍に対して有効な免疫応答が誘導できるとの結果を得ている。これらの結果に基づき、免疫自己寛容の操作による新しい腫瘍免疫療法の可能性を現在検討している。本年は、本研究室で作製した抗 GITR(Glucocorticoid-induced TNF receptor family-related protein)に対するモノクローナル抗体の生体内投与により有効な腫瘍免疫を惹起できるとの結果を得た。

一方、制御性 T 細胞の増殖あるいは機能強化を図り、移植臓器の拒絶反応の抑制、免疫寛容の導入が可能か検討した。本年は、生体内で抗原特異的制御性 T 細胞の増殖条件を解析した。その結果、内在性制御性 T 細胞は、アロ組織適合抗原の如き抗原性の高い抗原にさらされれば、強い増殖反応を示した。増殖した制御性 T 細胞

胞は移植臓器に対して免疫寛容を誘導した。これらの結果は、免疫自己寛容機構を T 細胞レベルで操作し、移植臓器に対する安定・安全な免疫寛容を誘導できる可能性を意味する。

(3) 新しい動物モデルを用いた慢性関節リウマチ(リウマチ様関節炎)の原因・発症機構の研究

免疫病理学的にヒトのリウマチ様関節炎と酷似する慢性関節炎を自然発症するマウスモデルを確立し、その原因・発症機構を解析している。この関節炎は、正常関節抗原を認識・攻撃する T 細胞による自己免疫性関節炎である。その原因は、常染色体劣性遺伝を示す単一遺伝子の異常である。その原因遺伝子として ZAP-70 を同定した。ZAP-70 の SH2 ドメインの構造的変化は、T 細胞の機能異常、その結果として胸腺での T 細胞選択異常を起こし、関節炎惹起性 T 細胞の産生に繋がる。現在、ヒトの慢性関節リウマチ患者の一部に同様の遺伝子変異がみられるか検討している。

This department studies : (i) the cellular and molecular basis of immunologic self-tolerance and the etio-pathology of autoimmune disease ; (ii) the strategy for eliciting effective immune responses to autologous tumor cells, or inducing immunologic tolerance to organ transplants, by manipulating the mechanism of immunologic self-tolerance ; and (iii) the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis.

One aspect of immunologic self-tolerance (i.e., immunological unresponsiveness of the normal immune system to normal self-constituents) is maintained by a T cell-mediated dominant control of self-reactive T cells. We showed that elimination of a T-cell subpopulation expressing CD25, which constitutes 5-10% of the peripheral CD4⁺ T cells and less than 1% of CD8⁺ T cells in normal individuals, elicits various autoimmune diseases immunopathologically similar to human counterparts (e.g., insulin-dependent diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis, and autoimmune gastritis with pernicious anemia). Functional characterization of this immunoregulatory CD25⁺CD4⁺ T-cell population revealed that it potently suppressed the activation/proliferation of other T cells in a cell to cell contact manner on antigen-presenting cells. This year, we have found that Foxp3, which encodes a forkhead/winged-helix transcription factor designated Scurfin, is specifically expressed in CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. Furthermore, we showed that introduction of Foxp3 gene to normal naive T cells can convert the cells to regulatory T cells, which can inhibit the development of autoimmune and inflammatory diseases when transferred to mouse models.

We have also investigated whether manipulation of the CD25⁺CD4⁺ T-cell population can break immunological unresponsiveness to autologous tumor cells and evoke effective immune responses to them. Removal of the population for a limited period indeed led to the rejection of tumor cells in vivo. This year, we have continued the experiments in which treatment of tumor-bearing mice with anti-GITR monoclonal antibody can provoke effective tumor immunity by neutralizing CD25⁺CD4⁺ T cell-mediated immunoregulation. This novel way of evoking tumor immunity would help to devise effective immunotherapy for cancer in humans.

We are also investigating the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA) by analyzing a mouse model newly established in our department. We showed that the arthritis in this model was autoimmune and mediated by CD4⁺ self-reactive T cells, and that the cause of arthritis was an autosomal recessive abnormality of a single gene. This year, we identified the disease gene as ZAP-70. A point mutation of the gene encoding the C-terminal SH-2 domain of ZAP-70 alters the thymic T-cell selection process, leading to thymic production of arthritogenic T cells. We are currently conducting the survey of RA patients to determine whether the same or similar genetic abnormalities can be responsible for the disease in some patients.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. : Development and function of CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. *Curr. Opinion in Immunol.* In press.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S. : A paragon of self-tolerance : Regulatory T cells and the control of immune responses. *Arthritis Research.* In press.
- Sakaguchi, S. : Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Ann. Rev. Immunol.* In press.
- Kajiura, F., S. Sun, T. Nomura, K. Izumi, T. Ueno, Y. Bando, N. Kuroda, H. Han, Yi Li, A. Matsushima, Y. Takahama, S. Sakaguchi, T. Mitani and M. Matsumoto. 2004. NF- κ B-inducing kinase establishes self-tolerance in a thymic-stroma dependent manner. *J. Immunol.* In press.
- Choi, B. K., Bae, J. S., Choi, E. M., Kang, W. J., Sakaguchi, S., Vinay, D. S., and Kwon, B. S. 2003. 4-1BB-dependent inhibition of immunosuppression by activated CD4⁺CD25⁺ T cells. *J. Leukoc. Biol.* In press.
- Zhang, X., Koldzix, D.J., Izikson, L., Reddy, J., Nazareno, R. F., Sakaguchi, S., Kuchroo, V. K., and Weiner, H. L. IL-10 is involved in the suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. *Int. Immunology.* 16 : 1-8, 2004.
- Sakaguchi, S. : The origin of FOXP3-expressing CD4⁺ regulatory T cells : thymus or periphery. *J. Clin. Invest.* 112 : 1310-1312, 2003.
- Sakaguchi1, N., Takahashi1, T., Hata, H., Nomura, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Sakihama, T., Matsutani, T., Negishi, I., Nakatsuru1, S., and Sakaguchi, S. : Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature.* 426 : 454-460, 2003.
- Sakaguchi, S. : Taming transplantation by regulatory T cells. *Nature Medicine* 9 : 1117-1118, 2003.
- Hori, S., Nomura, T., and Sakaguchi, S. : Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 299 : 1057-1061, 2003.
- Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. Control of autoimmunity by natural regulatory T cells. *Adv. Immunol.* 81 : 329-369, 2003.
- Takahashi, T. and Sakaguchi, S. : 2003. Naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in maintaining immunologic self-tolerance and preventing autoimmune disease. *Curr. Mol. Med.* 3 : 693-706.
- Sakaguchi, S. Control of immune responses by naturally arising CD4⁺ regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 197 : 397-401, 2003.
- Wood, K. and Sakaguchi, S. Regulatory T cells in transplantation. *Nature Rev. Immunol.* 3 : 199-210, 2003.
- Sakaguchi, S. Regulatory T cells : Mediating compromises between host and parasite. *Nature Immunol.* 4 : 10-11, 2003.
- Sakaguchi, S., Hori, S., Fukui, Y., Sasazuki, T., Sakaguchi, N., and Takahashi, T. Thymic generation and selection of CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells : Implications of their broad repertoire and high self-reactivity for the maintenance of immunologic self-tolerance. *Novartis Foundation Symposium.* 252 : 6-16 ; discussion 16-23, 106-14, 2003.

Wood, K. J., H. Ushigome, M. Karim, A. Bushell, H. S and S. Sakaguchi. Regulatory T cells in transplantation. *Novartis Foundation Symposium*. 252 : 177-88 ; discussion 188-93, 203-10, 2003.

Takahashi, T., and Sakaguchi, S. : The role of regulatory T cells in controlling immunologic self-tolerance. *Int. Rev. Cytol.* 225 : 1-32, 2003.

2) 総 説

坂口志文：制御性 T 細胞と免疫寛容 . *Molecular Medicine 免疫* 2003 39(臨時増刊号)106-115(2003)

清水淳, 坂口志文：CD25⁺CD4⁺T 細胞の免疫抑制機構 . *Annual Review 2003 免疫* 178-184(2003)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御 . *Molecular Medicine* 40(5)576-581(2003)

高橋武司, 坂口志文：調節性 T 細胞(Regulatory T cell). *アレルギー科* 15(6)525-528(2003)

坂口志文：制御性 T 細胞 *実験医学* 21(16)2163-2168(2003)

高橋武司, 坂口志文：制御性 T 細胞の分化と機能 *実験医学* 21(16)2169-2173(2003)

堀 昌平, 坂口志文：内在性制御性 CD4T 細胞による自己免疫制御 炎症と免疫 11(6)116-123(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

高橋武司：CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞による免疫の調節 第 15 回日本神経免疫学会学術集会 (2003.3.12-14. 長崎)

堀 昌平, 野村尚史, 坂口志文：転写因子 Foxp3 による制御性 T 細胞分化の制御 . 第 13 回 KTCQ(2003.6.27-28. 京都)

瀬戸口留可, 堀 昌平, 高橋武司, 坂口志文：免疫制御性 CD25⁺CD4⁺T 細胞の維持における IL-2 の役割 . 第 13 回 KTCQ(2003.6.27-28. 京都)

西岡朋尚, 高橋武司, 坂口志文：マウス GITR-Ligand の発現と機能：第 33 回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

堀 昌平, 野村尚史, 坂口志文：転写因子 Foxp3 による制御性 T 細胞分化の制御 . : 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10. 福岡)

八木治彦, 野村尚史, 堀 昌平, 中村恭子, 藤井信吾, 坂口志文：ヒト FOXP3 による制御性 T 細胞分化の制御 . : 第 33 回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

小野昌弘, 清水淳, 堀昌平, フェバリソルタン, 野村尚史, 高橋武司, 宮地良樹, 坂口志文：GITR^{high}T 細胞の除去による致死的自己免疫性心筋炎および他の臓器特異的自己免疫病の誘導：制御性 T 細胞における GITR, Foxp3 の発現相関：第 33 回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

高貴範, 野村尚史, 山崎小百合, 清水淳, 廣田圭司, 中村恭子, 千葉勉, 坂口志文：CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞の操作による腫瘍免疫の誘導 : 第 33 回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

西村英士, 先浜俊子, 瀬戸口留可, 田中紘一, 坂口志文：移植免疫寛容モデルにおける CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞の表現型・機能変化の解析：第 33 回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

瀬戸口留可, 堀 昌平, 高橋武司, 坂口志文：IL-2 の生体内中和による CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞の減少と自己免疫病の誘導：第 33 回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

Fehervari Zoltan, Shimon Sakaguchi: The role of Dendritic cells in the in vivo activation of CD4⁺CD25⁺ regulatory cells: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

田中聡, 野村尚史, 坂口教子, 坂口志文: SKG マウスの自己免疫性関節炎発症における制御性 T 細胞の役割: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

吉富啓之, 田中聡, 野村尚史, 坂口教子, 中村孝志, 坂口志文: 環境因子としての真菌感染による SKG マウス自己免疫性関節炎の惹起: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

廣田圭司, Fehervari Zoltan, 吉富啓之, 野村尚史, 芹沢功, 五十嵐美德, 若杉尋, 坂口教子, 坂口志文: SKG マウスにおける iNKT 細胞機能解析: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

岸祐介, 饗場祐一, 坂口教子, 坂口志文, 菊谷仁, 鏑田武志: B 細胞特異的 CD40 シグナルによる SKG マウス RA 様関節炎の発症: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

金丸史子, ボーンパンユアンナーク, 高橋武司, 坂口志文, 東みゆき: CD4⁺T 細胞における GITR の Costimulatory 機能: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

松本満, 野村尚史, 上野智雄, 松島明美, 高浜洋介, 坂口志文, 黒田範行: 胸腺上皮細胞の形成障害にもとづく自己免疫疾患病態の解析: 第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

2) 講演・シンポジウム

Shimon Sakaguchi: Naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in autoimmunity, tumor immunity and transplantation tolerance. The Second HAKONE-YAMA Symposium on Frontier in Translational Research: Immunity, Genetics and Regenerative Medicine(2003.1.16-17. Tokyo)

Shimon Sakaguchi: Naturally Arising CD25⁺CD4⁺ Regulatory T cells in Autoimmunity and Tumor Immunity. Keystone Symposia: Basic Aspects of Tumor Immunology(2003.2.17-23 Colorado. USA)

Shimon Sakaguchi: Naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in immunologic self-tolerance. International Symposium on Regulation of Immune Response in Health and disease(2003.2.20-23. Osaka)

Shimon Sakaguchi: Naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in immunologic self-tolerance. COE International Symposium on Recent Advances in Basic and Clinical Neuroimmunology(2003.3.12-14. Nagasaki)

坂口志文: 免疫制御と自己免疫 第26回日本医学会総会(2003.4.4-6. 福岡)

Shimon Sakaguchi: Naturally Arising CD25⁺CD4⁺ Regulatory T Cells in Immunologic Self-Tolerance. 46th Annual Meeting of the Korean Association of Immunobiologists(2003.4.19. Ikusan, Korea)

Shimon Sakaguchi: Immunological self-tolerance maintained by regulatory T cells. Photo-Immunosuppression Conference(2003.4.27. 淡路島)

坂口志文: 制御性 T 細胞(Regulatory T cells)による免疫制御 熊本大学大学院セミナー(2003.5.21. 熊本)

坂口志文: 内在性制御性 T 細胞: 自己免疫, 腫瘍免疫, 移植免疫の共通基盤について 第3回臨床免疫研究会(2003.6.28. 東京)

Shimon Sakaguchi: CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells: their development and function. FASEB Summer Research Conferences Lymphocytes & the Immune System: Molecular, Cellular & Integrative(2003.6.28-7.3. Arizona USA)

坂口志文: CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞: 自己免疫, 腫瘍免疫, 移植免疫の共通基盤について 動物への遺伝子導入

とその応用の開発研究会第 40 回定例会 免疫応答の抑制(2003.7.9. 東京)

坂口志文：CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞による免疫制御 第 5 回 伊豆カンファレンス自己免疫とウイルス免疫 (2003.8.23-24. 箱根)

Shimon Sakaguchi : Naturally arising CD4⁺regulatory T cells in immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. The Awaji International Forum on Infection and Immunity(2003.8.25-28. Awaji)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫制御：千里ライフサイエンスシンポジウム免疫制御と免疫疾患研究の最先端 (2003.9.2. 大阪)

坂口志文：制御性 T 細胞：自己免疫，腫瘍免疫，移植免疫の共通基盤について 第 24 回新潟細胞療法研究会 (2003.9.5. 新潟)

Shimon Sakaguchi : SKG mice, a new genetic model of rheumatoid arthritis. 3rd World Congress of the Global Arthritis Research Network(GARN): International Arthritis Summit(2003.9.14-17. 宮崎)

Shimon Sakaguchi : Immunological self-tolerance maintained by naturally arising regulatory T cells. 34th. Annual Meeting of the German Society of Immunology(2003.9.24-27. Berlin Germany)

Shimon Sakaguchi : The role of CD25⁺CD4⁺ CTLA-4⁺ T regulator cells. FOURTH DUESSELDORF SYMPOSIUM ON IMMUNOTOXICOLOGY(2003.9.29-30. Dusseldorf Germany)

Shimon Sakaguchi : Naturally arising CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in autoimmunity and tumor Immunity. CANCER VACCINES An International Symposium By the Cancer Research Institute(2003.10.1-3. New York USA)

坂口志文：制御性 T 細胞による移植免疫寛容の誘導 京都大学再生医科学研究所開所 5 周年記念シンポジウム (2003.10.6. 京都)

高橋武司：CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞による免疫制御 第 31 回日本臨床免疫学会総会(2003.10.9-10. 東京)

坂口志文：制御性 T 細胞：自己免疫，腫瘍免疫，移植免疫の共通基盤について 第 3 回臨床免疫セミナー in Kyoto (2003.10.18. 京都)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫制御と自己免疫：自己免疫疾患の発症および病態形成と CD4T 細胞 (2003.10.22. 東京)

坂口志文：免疫寛容のメカニズム 第 39 回日本移植学会総会(2003.10.27-28. 大阪)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫制御：第 56 回 日本細菌学会関西支部総会(2003.11.1. 奈良)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫制御：横浜市立大学大学院医学最先端セミナー(2003.11.4. 横浜)

坂口志文：Regulatory T Cells in Tumor Immunity：財団法人 高松宮妃癌研究基金 第 34 回 国際シンポジウム (2003.11.11-13. 東京)

Shimon Sakaguchi : Foxp3 and Zap-70 : two clues to autoimmune disease. The 3rd Annual Harvard Autoimmunity Symposium(2003.11.14. Boston USA)

Shimon Sakaguchi : CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells 13th Annual Workshop of the Center for the Study of Inflammatory Bowel Disease, Immune Regulatory Networks(2003.11.14-15. Boston USA)

Shimon Sakaguchi : Naturally arising CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunologic self-tolerance. Richard K. Gershon Symposium on Suppressor T Cells(2003.11.17. New Haven USA)

Shimon Sakaguchi : Naturally arising CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunologic self-tolerance. US-Japan Symposium for integrated Medical Science, Frontiers in Immunobiology(2003.11.18-19. Philadelphia USA)

坂口志文：制御性 T 細胞：自己免疫，腫瘍免疫，移植免疫の共通基盤について 第 10 回分子皮膚科学フォーラム

(2003.11.21-22. 京都)

坂口志文：制御性T細胞による免疫制御：第24回 日本炎症再生医学会(2003.11.27. 京都)

坂口志文：CD25⁺CD4⁺制御性T細胞による免疫制御 第19回 Wako ワークショップ(2003.11.28. 東京)

Shimon Sakaguchi：Naturally arising CD25⁺CD4⁺regulatory T cells in immunologic self-tolerance：Their role in self-tolerance and transplantation tolerance. 33th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunologists (2003.12.8-10. 福岡)

Noriko Sakaguchi：SKG mice, a new genetic model of rheumatoid arthritis. 33th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunologists(2003.12.8-10. 福岡)

坂口志文：制御性T細胞による免疫応答の制御：第33回 日本免疫学会総会(2003.12.8-10. 福岡)

Shimon Sakaguchi：Immunologic self-tolerance maintained by naturally arising regulatory T cells. Immunology Research Seminar Series at Washington University(2003.12.15. St. Louis USA)

Shimon Sakaguchi：Immunologic self-tolerance maintained by naturally arising regulatory T cells. NIH Immunology Interest Group Seminar Series(2003.12.17. Bethesda USA)

Shimon Sakaguchi：Immunologic self-tolerance maintained by naturally arising regulatory T cells. NYU Immunology Club Seminar Series(2003.12.18. New York USA)

Shimon Sakaguchi：Foxp-3 and Zap-70：Two clues for autoimmune disease. Autoimmunity Seminar Series at University of Washington(2003.12.19. Seattle USA)

(受賞)

持田記念学術賞

シミュレーション医工学分野 Department of Medical Engineering

分野主任 教授 堤 定美

Prof. Sadami Tsutsumi

【研究概要】

本研究室では、生体組織と力学的に調和する生体材料や人工臓器の開発など生体機能の再生を目的とした診断・治療の支援を行うために、コンピュータ科学や材料工学の手法を用いて、以下のような基礎的ならびに応用的研究を行っている。

1. 生体組織の力学的適応変形に関するシミュレーション

生体組織の力学的特性の解明を基本として、特に骨のモデリングならびにリモデリング現象など生体組織の力学的合理性の適応変形過程などについて数値シミュレーションを行っている。その結果、等応力分布あるいは等歪エネルギー密度分布などの制約関数に従って、各種骨組織の形態が形成されていることが示唆され、この制約の下に、生体組織と力学的に調和する人工関節のデザインの創生を試みている。(新エネルギー・産業技術総合研

発機構助成金および NITE との共同研究)

2. 人工歯根周囲における歯根膜の再生

現在の人工歯根は、天然歯根のように歯根膜を持たず、直接顎骨に固定させるので、咀嚼時の動的荷重が緩衝されず直接顎骨に伝わる。その結果、歯槽骨に過大な応力が発生して骨吸収が起こり、ゆるみが生じる危険性が高い。そこで、チタン製人工歯根をポリマーで被覆し、表面処理により細胞接着性タンパク質であるコラーゲンを固定化し、さらにその上に歯根膜細胞を培養し、歯根膜の再生を図っている。(文部省科学研究費補助金)

3. MR Elastography(MRE)による in vivo 弾性率データの計測、解析および検証

磁気共鳴弾性率計測法(MRE)は、MRI をベースとする新たな測定技術であり、これによる体内組織・器官の非侵襲性弾性率計測の手法を確立し、医療研究支援用の生体組織データベースを構築する。また触感デバイスをを用いた人工現実感(VR)による VR モデルシステムを開発している。(情報学専攻との共同研究)

4. パラレルメカニズム咀嚼ロボット

歯科や外科領域での診断や手術では、人体構造の静的な位置情報だけでなく、動的な運動情報が予後を左右する。運動情報をコンピュータに取り込むためにパラレルメカニズムを採用した多関節アームを開発してきたが、さらに駆動系を組み込んだパラレルロボットを開発し、個々の患者の口腔内模型を咀嚼中に計測した顎運動情報に基づいて運動させるシステムを開発した。(文部省科学研究費補助金)

5. 歯冠修復用高強度・高靱性ガラスセラミック材料と加圧成型システムの開発

優れた生体適合性と従来の歯科用ポーセレンよりも 3~4 倍高い曲げ強度と破壊靱性値をもつ Diopside 系ガラスセラミック材料を開発し、900 付近で加熱・加圧成型・結晶化するシステムなど加工性と審美性をも備えた新しい歯冠修復用材料を研究してきており、臨床試験の最中である。(文部省科学研究費補助金)

6. 新しい生体材料としてのマグネシウム合金の開発

生体必須のミネラルであり、比強度がもっとも高い金属の一つであるマグネシウムは、体液中でアパタイトの沈着が速やかであり、新生骨との結合と転化に優れた特性を有することを見出しており、生体材料とくに人工骨用材料としての応用を目指している。

7. 人工関節軟骨・人工椎間板などの医療用ハイドロゲル

関節軟骨が持つ優れた力学的特性を具備した人工関節軟骨材を開発することにより、関節の病変部のみを置換し健全な軟骨下骨梁を残す新しい人工関節軟骨の開発を目指している。当研究室にて新しく開発した高強度・高弾性率ポリビニルアルコールハイドロゲルは人工関節軟骨・椎間板材料として有望である。

8. 耐摩擦・摩耗特性に優れた人工関節用ポリエチレン

人工関節の摺動部に使用される超高分子量ポリエチレンの摩耗粉により発生する不良肉芽組織が骨吸収を惹起する異物反応が問題となっている。そこで、物理的な改良法により最終成形物に分子配向と結晶面配向を導入することにより、耐摩耗性の改良を試み、良好な結果が得られている。

9. 生体組織と材料の衝撃吸収特性など力学的物性の測定ならびに解析

衝撃解析シミュレーションや生体を模した頸部モデルによる追突実験から、鞭打ち損傷を解明し、安全で快適な自動車シートの開発を試みている。

10. ポリフェノールによる細胞増殖制御と生体組織の長期間保存

緑茶ポリフェノールが種々の動物細胞の増殖を制御でき、細胞に対する無毒性の睡眠剤であることを見いだした。また、冬眠覚醒後ほぼ 100% の細胞が増殖を再開することを明らかにした。更に、ラットの脾臓や大動脈が体温で数ヶ月間も保存でき、他のラットへの移植後に正常に数ヶ月間生存することも確認した。現在、ポリフェ

ノールを用い他の組織，例えば，ブタ膝関節軟骨，モルモット歯根膜，及び家兎角膜等に対する長期間保存の検討も行い，良好な結果が得られた．

11．骨格筋収縮エネルギーを利用した人工心臓駆動システム(筋肉の力学モデルの構築)

患者自身の筋肉を駆動力に用いる「骨格筋ポンプ」と呼ばれる新しいデバイスの開発を目的としている．広背筋と胸膜の間にバルーンを挟み込み，広背筋に電気刺激を与えて収縮させ，その収縮力を人工心臓の駆動力として有効に利用する．

12．生体形態計測システムと手術シミュレーション(顎変形症治療計画支援システム)

顎変形症手術に際しては，患者と術者とが術式の定量的検討と術後の咬合機能と顔貌の改善予測情報を確認して(informed consent)，望むことが極めて重要である．3次元画像を多用した，治療計画支援のためのシステムを開発している．(医学研究科口腔外科学講座および整形外科学講座との共同研究)

13．人体に優しい義歯床

現在，臨床で広く使用されている義歯床として，加熱重合タイプのポリメチルメタクリレート(PMMA)と，射出成型タイプのポリサルホン(以下PSと略)やポリカーボネート(以下PCと略)が知られている．加熱重合タイプのPMMAは，PMMAの粉末の存在下でモノマーを義歯床の型であるフラスコの中で加熱重合して製造される．このため，重合に伴う収縮率が高く，耐衝撃性等の力学的特性に劣る上，特に残留モノマーが多いため，使用時に残留モノマーの溶出によるアレルギー反応が惹起されることが指摘されており，生体に対する安全性の問題が残っている．

そのため，これに替わる材料としてPSやPCが射出成型用義歯床として使用されるようになって来た．ところがPSは耐衝撃性に劣り，またPCについても，残留モノマーであるビスフェノールが，近年環境ホルモンとしての毒性が大きく取り上げられている．さらにPMMA補修部材としての接着性が悪い為，人体にとって安全で，しかも耐衝撃性等の力学的特性に優れ，残留モノマーが少ない義歯床が切望されてきた．

本研究では，残留モノマーが極めて少なく，刺激や毒性のない人体に優しいのみならず，耐衝撃性や高曲強度で，耐久性に優れた射出成型タイプのナノコンボジットPMMA義歯床を開発し，臨床の場に提供した．(近畿経済産業局速攻型地域新生コンソーシアム研究開発事業)

1. Simulation of Biomechanical Adaptation Process of the Living Tissues.

Numerical simulations are carried out especially on the modeling and remodeling phenomena of the bones as the biomechanical adaptation. With constraint functions such as stress distribution or strain energy density distribution, it is indicated that the form of the bone has been modeled, and the design of artificial dental roots which dynamically harmonizes with the living tissue under this constraint has being tried(Supported by New Energy and Industrial Technology Development Organization)

2. Regeneration of the periodontal Membrane around Dental Implant Roots.

The present artificial dental root is fixed directly in the alveolar bone without having periodontal ligament like natural tooth root, the stresses are directly transmitted without any damping effect. The excessive stresses in the alveolar bone may arise and cause the bone resorption by which the loosening of the implants occurs. Therefore, we have been attempting that the dental implant made of titanium is covered with a polymer, and the collagen which is the cell adhesive protein is fixed by some surface treatments, and in addition, the periodontal ligament cell is cultivated on the surface for regeneration of the periodontal membrane(Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

3. MR Elastography Measurement, Analysis and Verification.

Magnetic resonance elastic modulus measurement method (MRE) of the elastic modulus is a new measuring technique based on the MRI, and it establishes the technique of the noninvasive elastic modulus measurement of the living tissue and organ in vivo. Database construction for the medical research support, and virtual reality (VR) system using the haptic device are investigated. (Joint Research with Information Division, Kyoto University)

4. Kinematic Analysis of a mastication Robot employing the 6-degree-of-freedom parallel mechanism

Dynamic behaviors of the human body affect the diagnosis or the prognosis of operations in dental and surgery fields. In our laboratory, mastication robot is developed in order to represent the human mandibular dynamics; i.e. not only kinematics but also pressure acting between jaws. The robot employs the 6-degree-of-freedom parallel mechanism in order to decrease the positional information errors. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

5. Development of glass ceramics with high strength and toughness and pressure forming systems for restorative crown materials

Diopside glass ceramics is known as biocompatibility. Moreover, we have been developing the ceramics to have 3 and 4-fold higher the strength and toughness than the used dental porcelains. The crystallization system with heating and pressure molding is developed and now is running a clinical trial. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

6. Development of magnesium alloys as biomaterials.

Magnesium offers several advantages such as low density, high specific strength to weight ratio, good castability, non-toxic. Moreover, magnesium is an essential element in human body. The present study is carried out to evaluate magnesium in medical and dental applications and to examine its corrosion behavior.

7. New Artificial Articular Cartilage and Intervertebral Disk.

Development of the artificial cartilage and intervertebral disk is necessary in order to recover support and mobility simultaneously in joints and spine which received the damage. We examined the possibility of the application of polyvinyl alcohol hydrogel which can control the mechanical strength by the change of water content and is excellent in the biocompatibility. It replaces only lesion part and leaves the sound subchondral bone. The high strength and high elastic modulus of the polyvinyl alcohol hydrogel newly developed in this department is promising as artificial articular cartilage and intervertebral disk material.

8. Polyethylene for Artificial Joints with High Wear Resistance.

The wear particles of polyethylene are produced by the friction between the metal and UHMWPE when artificial joint used for the long term. It is known that the osteolysis occurs by foreign body granulation tissue which the wear particle induces. The development of new UHMWPE for artificial joint which controlled super structure by the crystallization under molecular orientation is being tried in order to improve abrasion resistance of UHMWPE.

9. Measurement and Analysis of Impact Energy Absorption of the Living Tissues and Biomaterials.

By computer simulations and experiments with anatomical cervical model in rear-end collision, the generation mechanism of the whiplash injuries is clarified, and the development of the safe automobile sheet is being tried.

10. Proliferation Control of Mammalian Cells and Tissue Preservation for Long Term.

Ordinary method of cell and tissue storage is employed preserving method by freezing at extra low temperature of -196°C and original cell is gotten by rapid thawing of frozen cell as needs arises. However, the survival ratios of cells after

thawing and fusion is low, depending on a kind of cells and examiner's skill, while those of normal and useful cells such as Langerhans islets and liver cells except cancer cell is about 10 to 30%. We are investigating a novel preservation method, which can control the proliferation of various types of cells, and the long-term preservation of various tissue or organs at the physiological temperature using polyphenol as a preservation agent.

11. Mechanical Analysis of the isometric Contraction of the Skeletal Muscles for an Artificial Heart Support. (Construction of Dynamic Model of the Muscle)

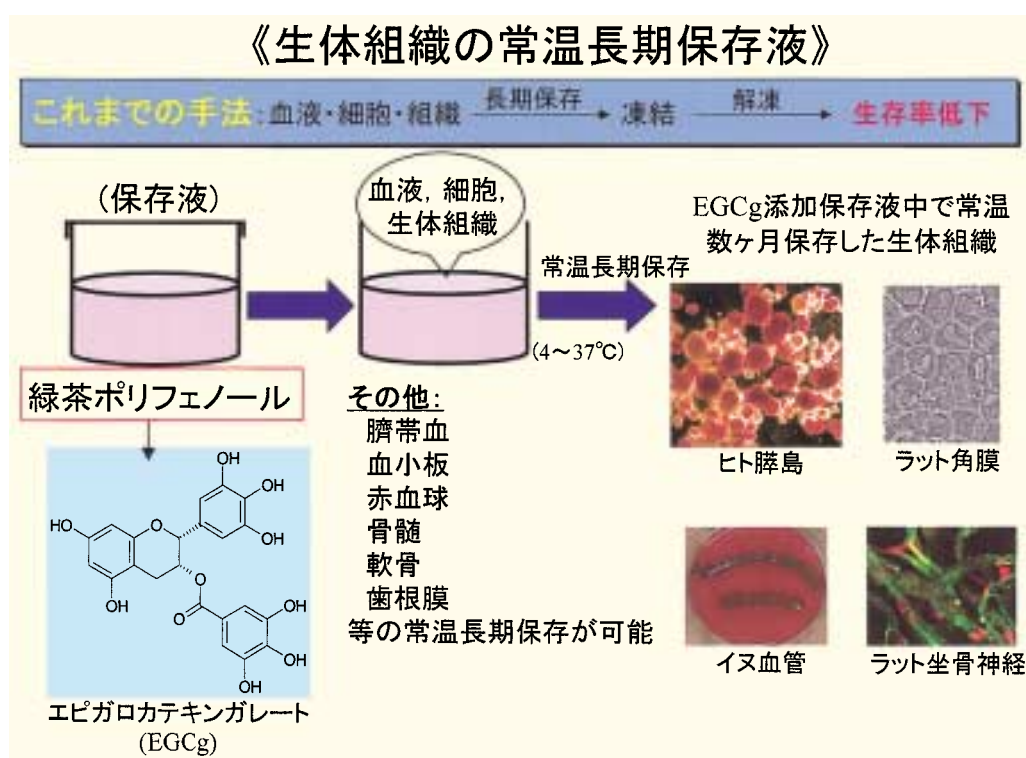
Our development of a new device called "skeletal muscle pump" which uses the Latissimus Dorsi muscle for artificial heart drive system using the skeletal muscle contraction has been investigated. A balloon is inserted between the muscle and pleura, and an electric stimulation is given in the muscle to contract, and the shrinkage force is effectively utilized as driving force of the artificial heart.

12. Morphometry System and Operation Simulation (Therapeutic Planning Support System for Jaw Deformities)

In the jaw deformation disease operation, patients and surgeons would like to confirm quantitative evaluation of operative method and improvement of postoperative occlusal function and feature (informed consent). The system for the therapeutic planning support which uses the three-dimensional images abundantly has been developed. (Joint Research with Department of the Oral Surgery and Orthopaedic Surgery, Kyoto University)

13. The gentle denture base in human body

Today, we are researching and developing novel thermoelastic denture base composed of polymethylmethacrylate (PMMA) as a main component for injection molding. Denture base is generally employed polycarbonate (PC) as thermoelastic resin. However, PC is eluted in one's mouth, bis-phenol A of an environmental pollution, and furthermore, poor adhered to PMMA resin of repair adhesive. Heat-polymerized type PMMA mainly employed as denture base, is eluted in one's mouth a lot of monomer and oligomer, which come from residue product of polymerization, and is anxious to cause an allergy. We are researching and developing novel thermoelastic denture



base which overcomes disadvantages of traditional denture resin.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Shimoda, T., Tsutsumi, S., Sumiyoshi, S., Ishikawa, H., Honda, T.: Influences of load bearing pattern on the temporomandibular joint caused by relative difference in the size and position of condyle and fossa: Comparison of anterior and posterior condylar deviation with respect to increased size, *Russian Journal of Biomechanics*, **7(2)**: 57-65, 2003.
- Shimoda, T., Tsutsumi, S., Sumiyoshi, S., Maeda, A., Honda, T.: A preliminary analysis of new total temporomandibular joint prosthesis by three-dimensional finite element method, *Russian Journal of Biomechanics*, **7(2)**: 66-72, 2003.
- Shimada, T., Tsutsumi, S., Honda, T.: Development of a New TMJ Arthroscope Combined with a Quartet Angle and Multiple Fields of Vision. Part 1: Arthroscope with a Visual Field of 195 Degrees, *Russian Journal of Biomechanics*, **7(3)**: 22-27, 2003
- Jung, D.Y., Tsutsumi, S., Sekel, R., Frost, R., Ikeuchi, K., Wingrove, P.: A New Designed Acetabular Cup-Initial Strength Evaluation Using Finite Element Analysis, *Proceeding of the IASTED International Conference BIOMECHANICS*, 22-27, 2003.
- Tanaka, M., Yoshida, H., Tsutsumi, S.: Reproducing Biomechanical Cervical Phenomena in low-Speed Rear-End Collisions by K-D Neck Model®, *Proceeding of the IASTED International Conference BIOMECHANICS*, 176-183, 2003.
- Yoshino, N., Takai, S., Tsutsumi, S.: Finite Element Analysis in Bioactive-coated Tibial Components, *Fifteen Years of Clinical Experience with Hydroxyapatite Coating in Joint*, 107-111, 2003
- Taira, M., Araki, Y., Nakano, H., Takahashi, J., Hyon, S.-H.: Cellular reactions to polylactide-based sponge and collagen gel in subcutaneous tissue, *Journal of Oral Rehabilitation*, **30**: 106-109(2003)
- Omasa M., Fukuse, T., Matsuoka, K., Inui, K., Hyon, S.-H., Wada, H.: Effect of Green Tea Extracted Polyphenol on Ischemia / Reperfusion Injury After Cold Preservation of Rat Lung. Transplantation Proceedings. **35**: 138-139 (2003)
- Hyon, S.-H., Jin, F., Jamhidi, K., Tsutsumi, S., Kanamoto, T.: Biodegradable Ultra High Strength Poly(L-lactide) Rods for Bone Fixation, *Macromolecular Symposia*, **197**: 355-368(2003)
- Nakao, H., Hyon, S.-H., Tsutsumi, S., Matsumoto, T., Takahashi, J.: Control of Pore Size in L-lactide/ ϵ -caprolactone Copolymer Foams for Tissue Regeneration by the Freeze-drying Method. *Dental Materials Journal*, **22(3)**: 262-271(2003)
- Ushio, K., Oka, M., Hyon, S.-H., Yura, S., Tokuchida, J., Nakamura, T.: Partial hemiarthroplasty for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. An experimental study in the dog. *Journal of Bone and Joint Surgery. British* **85(6)**: 922-930(2003)
- Ushio, K., Oka, M., Hyon, S.-H., Hayami, T., Yura, S., Mastumura, K., Toguchida, J., Nakamura, T.: Attachment of

Artificial Cartilage to Underlying Bone. Appl Biomater **68B** 59-68(2003)

Ohta, M., Hyon, S-H., Tsutsumi, S., : Control of crystalline orientation to enhance the wear resistance of ultra-high molecular weight polyethylene crystallization cups for artificial joints". WEAR **255**(pt. 2) : 1045-1050(2003)

Sawai, D., Takahashi, K., Sasashige, A., Kanamoto, T., Hyon, S-H., : Preparation of Oriented β -Form Poly(L-lactic acid) by Solid-State Coextrusion : Effect of Extrusion Variables. Macromolecules **36**(10) : 3601-3605(2003)

Lee, J-S., Lee, H-K., Kim, J-Y., Hyon, S-H., Kim, S-C., : Thermally induced phase separation in poly(lactic acid) dialkyl phthalate systems. Journal of Applied Polymer Science **88**(9) : 2224-2232(2003)

Han, D-W., Suh, H., Park, Y-H., Cho, B-K., Hyon, S-H., Park, J-C., : Preservation of Human Saphenous Vein against Reactive Oxygen Species-Induced Oxidative Stress by Green Tea Polyphenol Pre-treatment. Artificial Organ, **27** (12) : 1137-1142(2003)

Park, Y-H., Han, D-W., Suh, H., Ryu, G. H., Hyon, S-H., Cho, B-K., Park, J-C., : Protective effects of green tea polyphenol against reactive oxygen species-induced oxidative stress in cultured rat calvarial osteoblast, Cell Biology and Toxicology, **19**(5) : 325-337(2003)

Ohta, M., Hyon, S-H., Kang, Y-B., Oka, M., Tsutsumi, S., Murakami, S., Kohjiya, S., : Wear Properties of UHMWPE Oriented under Uniaxial Compression during the Molten State and at Lower Temperatures than the Melting Point. : The Japan Society of Mechanical Engineering, International Journal Series C, Vol. 46, 1297-1303(2003)

村瀬晃平, 奥本泰久, 堤 定美, 吉野信之 : 生体三次元有限要素モデルの形状忠実度評価法, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, **24** : 17-22, 2003

福田幸久, 久保俊一, 吉野信之, 吉田宏昭, 堤 定美, 村瀬晃平, 高井信朗 : 膝関節の衝撃伝達機構に関する力学的研究, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, **24** : 127-132, 2003

熊谷一星, 坂口一彦, 岡正典, 速水尚, 玄 丞然, 松村和明, 堤 定美, 池内 健, 森田有亮, 戸口田淳也, 中村孝志, : 半関節形成術用人口関節軟骨 Poly(vinyl alcohol) Hydrogel のトライボロジ特性評価, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, **24** : 227-233.

黒川正人, 井出亜里, 白澤功洋, 桑原秀行, 伊勢直子, 村石信二, 堤 定美, 鈴木茂彦 : 顔面骨骨折整復に用いたチタン製プレートの表面変化と周囲組織の元素分析, BIOMEDICAL RESEARCH ON TRACE ELEMENTS, **14**(3) : 219-225, 2003.

2) 著 書

太田 信, 半田 明, Rufenacht, D. A., 堤 定美 : 脳動脈瘤ステントの力学的試験, 「医療材料・医療機器の安全性と適合性」(土屋利江編, シーエムシー出版, 東京), 90-96, 2003.

堤 定美, 姜 有奉, 鄭 徳泳 : 微小生体組織の体積弾性率の in situ 測定法, 「医療材料・医療機器の安全性と適合性」(土屋利江編, シーエムシー出版, 東京), 193-199, 2003.

玄 丞然 : 再生医療用培地「ナノファイバーテクノロジーを用いた高度産業発掘戦略」(本宮達也編, シーエムシー出版, 東京) 2004.

3) 総 説

堤 定美 : 軟骨の力学的特性, バイオインダストリー, **19**(7) : 6-13, 2003.

堤 定美 : 再生歯科医学への期待, ザ・クインテッセンス, **22**(1) : 224-227, 2003.

堤 定美：人工関節に使用される材料の標準化戦略，セラミックス，38(1): 30-34, 2003.

堤 定美，東 高志：MR を用いた人体シミュレーション研究，医器学，73(6): 291-302, 2003.

吉山昌宏，西谷佳宏，清水洋理，土井潤一，山田登美子，堤 定美，玄 丞然，前田伸子，桃井保子，秋本尚武，
今里 聡，恵比寿繁之，斉藤隆史，松田浩一：新しい触治療法を求めて：保存修復から象牙質再生への新
展開，日本歯科医学会誌，22：76-80，2003.

玄 丞然：時限分解吸収性高強度・高弾性率のポリ乳酸骨折治療材，高分子加工．52 巻 9 号：386-393, 2003.

玄 丞然：緑茶ポリフェノールを用いた移植用生体組織バンク．月刊バイオインダストリー，20，35-46, 2003.

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Mizuno. Y., Nishiguchi. S., Okuuchi. N., Nakagawa. Y., Azuma. T., Tsutsumi. S., Nakamura. T.: 3D, Weight Bearing
MRI Analysis of Meniscal Displacement. 11th the International Society for Magnetic Resonance in Medicine
(ISMRM) Scientific Meeting and Exhibition .(2003.7.10-16. Toronto)

水野泰行，中村孝志，堤 定美：外科手術領域におけるナビゲーション支援システムの現状．第 30 回歯科人工知
能研究会(2003.8.30. 岡山)

姜 有峯，鄭 徳泳，水野泰之，東 高志，堤 定美，池内 健，奥内 昇，西口 滋：姿勢が及ぼす腰椎の生体
力学的変化に関する研究 第 1 報 座位荷重下における腰椎 MRI 観察，第 30 回日本臨床バイオメカニクス
学会 .(2003.11.27-28. 宇部市)

熊谷一星，坂口一彦，岡 正則，速水 尚，玄 丞然，松村和明，堤 定美，池内 健，森田有亮，戸口田淳也，
中村孝志：反関節形成術用人工関節軟骨 Poly(vinyl alcohol) Hydrogel のトライボロジ特性評価，第 30 回日
本臨床バイオメカニクス学会 .(2003.11.27-28. 宇部市)

金 奉哲，玄 丞然，堤 定美，中村光伸，糸満盛憲：架橋したポリ-L-乳酸骨固定材の in vitro と in vivo 評価，
第 25 回日本バイオマテリアル学会 .(2003.12.16-17. 大阪市)

Baru, N., Tsuchiya, T., Tsutsumi, S.: Different action on the chondrogenesis of human chondrocytes with two types of
hyaluronic acid，第 25 回日本バイオマテリアル学会 .(2003.12.16-17. 大阪市)

熊谷一星，玄 丞然，速水 尚，松村和明，森田有亮，池内 健，坂口一彦，堤 定美：人工関節軟骨 Poly(vinyl
alcohol) Hydrogel のトライボロジ特性における架橋効果の影響，第 25 回日本バイオマテリアル学会 .
(2003.12.16-17. 大阪市)

松本慎一，玄 丞然，Zehang, G., Reems. J.: 緑茶ポリフェノールによるラット腓島の長期保存およびヒト腓島へ
の応用．2 回日本再生医療学会総会(2003.3.11-12. 神戸)

玄 丞然，須賀井一，熊谷一星，堤 定美：ポリフェノールを用いた関節軟骨の常温長期間保存．第 2 回日本再生
医療学会総会(2003.3.11-12. 神戸)

Han. D., Shu. H., Park. Y., Cho. B., Kim. J., Jung. T., Hyon. S., Park. J.: Preservation of Human Saphenous Veins by
Green Tea Polyphenol Pretreatment. Society For Biomaterials 29th Annual Meeting and Exposition(2003.4.30-
5.3. USA)

Hyon. S., Nakajima. N., Sugai. H., Tsutsumi. S.: Bio-Adhesive for living Tissues. Society For Biomaterials 29th Annual
Meeting and Exposition(2003.4.30-5.3. USA)

Hyon, S-H., Kang, Y-B., Ohta, M., Tsutsumi, S., : Development of UHMWPE in which Oxidative Degradation is not Generated by Radiation Sterilization. International Biomechanics and Biomaterials(2003.7.11-12. Munich, Germany)

池内良輔, 柿木良介, 松本泰一, 中村孝志, 玄 丞然: ポリフェノール処理した保存末梢神経移植に関する研究. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

向井田智之, 占部 憲, 成瀬康治, 網川慎一郎, 大貫裕子, 高平尚伸, 玄 丞然, 糸満盛憲: 型コラーゲンスポンジを用いた培養が軟骨細胞におよぼす影響についての検討. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

松村和明, 玄 丞然, 中島直喜, 岩田博夫, 堤 定美: ハイドロキシアパタイト固定化基材上での歯根膜細胞の培養と機能発現. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

石野 豊, 佐野洋一郎, 都築祐勝, 外園千恵, 中村隆宏, Fullwood. N., 玄 丞然, 金 度勲, 木下 茂: ポリフェノールの角膜保存に対する影響. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

松本慎一, Zhang. G., 玄 丞然, Tomnrello. Y., Michael Strong. D, Reems.JA: 緑茶ポリフェノールによるヒト臍島生存率の改善効果. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

玄 丞然, 須賀井一, 堤 定美: 義歯床用レジンの口腔内模擬圧縮疲労試験. 第42回日本歯科理工学会学術講演会(2003.9.19-20. 盛岡)

澤井大輔, 横山隆文, 高橋和代, 金元哲夫, 玄 丞然: ポリ-L-乳酸の延伸による結晶転移. 第52回高分子討論会(2003.9.24-26. 山口)

金 奉哲, 玄 丞然, 堤 定美: γ 線照射によるポリ-L-乳酸の架橋. 第52回高分子討論会(2003.9.24-26. 山口)

中島直喜, 玄 丞然, 須賀井一, 堤 定美: ポリフェノールと種々の生体高分子との相互作用・ポリフェノール構造の影響. 第52回高分子討論会(2003.9.24-26. 山口)

Moon. SI., Hyon, SH., Kimura, Y.: Synthesis of Poly(L-lactic acid)s by Direct Polycondensatio. 1st International Conference on Bio-Based Polymers(2003.11.12-14. 埼玉)

熊谷一星, 玄 丞然, 速水 尚, 松村和明, 森田有亮, 池内 健, 堤 定美, 坂口一彦: 半関節形成術用人口関節軟骨 Poly(vinyl alcohol)Hydrogel のトライボロジ特性評価(第二報). 第30回日本臨床バイオメカニクス学会(2003.11.27-28. 山口)

玄 丞然, 松村和明, 堤 定美, 岡 正典, 中村孝志: PVA ハイドロゲルの人口関節軟骨および人工椎間板. 第123回ポパール会(2003.12.6. 京都)

金 奉哲, 玄 丞然, 堤 定美, 中村光伸, 糸満盛憲: 架橋したポリ-L-乳酸骨固定材の in vitro と in vivo 評価. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

向井田智之, 占部 憲, 成瀬康治, 網川慎一郎, 大貫裕子, 高平尚伸, 玄 丞然, 糸満盛憲: 型コラーゲンスポンジを用いた培養が軟骨細胞に及ぼす影響についての検討. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

金 勝乾, 黒澤 尚, 奥田貴俊, 石島旨章, 坂本優子, 玄 丞然, 須賀井一: ポリ乳酸を利用した靱帯損傷に対する再生医療の可能性. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

2) 講演・シンポジウム

玄 丞然: 緑茶ポリフェノールを用いた細胞増殖制御と生体組織の常温長期保存, 第18回茶学術研究会(特別講演)(2003.2.13. 静岡)

玄 丞然：生分解性ポリ乳酸開発の現状と展望，RD 懇話会(招待講演) (2003.3.19. 大阪)

玄 丞然：生体内分解吸収性ポリ乳酸骨折治療材，第 40 回人工関節の機能高度化研究会(依頼講演) (2003.3.29. 岡山)

玄 丞然：再生医療と大学発ベンチャー，融合バイオ研究会(招待講演) (2003.5.16. 京都)

玄 丞然：再生医療における高分子ゲル材料の役割，ゲルワークショップ高分子学会ゲル研究会(招待講演) (2003.8.7. 長野)

玄 丞然：Tissue preservation for transplantation using polyphenorl，仁済大学校医科大学(招待講演) (2003.10.21. プサン)

玄 丞然：The role of the biomaterial in the regeneration medicine，延世大学校医科大学(招待講演) (2003.10.22. ソウル)

玄 丞然：人口歯根表面への歯根膜再生，第 51 回国際歯科研究会日本部会総会・学術大会(依頼講演) (2003.12.2. 大阪)

水野泰行 中村孝志 堤定美：医療へのロボットの応用 (依頼講演)．第 38 回医工学フォーラム(2003.5.23. 京都)

水野泰行 中村孝志 堤定美：整形外科領域における手術支援システムの現状と展望について(依頼講演)．KRP，第 10 回ナノ再生医工学研究会(2002.11.29. 京都市)

生体組織工学研究部門

生体分子設計学分野

Department of Cellular Differentiation

分野主任 教授 開 祐司

Prof. Yuji Hiraki

【研究概要】

本研究分野では、組織血管化、軟骨・骨・腱・靱帯形成とその再生修復の分子機構の解明を主たるテーマとして、動物モデル、細胞培養系を駆使して分子レベルでの解析を行っている。

1. 組織特異的血管侵入障壁を構成する血管新生抑制因子の研究

間葉系組織のうち、軟骨は例外的に無血管な組織である。また、腱・靱帯も血管網に非常に乏しい組織であることが知られている。一方、これらの組織に隣接している骨や筋肉は、血管網に非常に富む組織である。すなわち、間葉系には血管侵入を容易に許容する組織とそれとは対照的に血管網の侵入を積極的に阻止する障壁を持つ組織が混在している。

我々は、軟骨の血管侵入障壁を構成する分子を明らかにするために、血管内皮細胞の増殖抑制活性を指標にしてウシ胎仔骨端軟骨の抽出物から血管新生抑制因子として Chondromodulin-I (ChM-I) を同定した。ChM-I は、哺乳類では胎生期の軟骨性骨原基の無血管ゾーンに特異的に発現し、血管新生を抑制することによって、脱灰骨基質によって誘導される軟骨から骨への置換を負に制御するだけでなく、軟骨肉腫や大腸腺癌などの腫瘍の増大を抑制する活性を有する。ところが、ChM-I ノックアウトマウスでは、軟骨形成や軟骨内骨化のタイミングに明らかな異常は見出されなかったことから、ChM-I 以外にも血管侵入抵抗性を与える仕組みが存在することが示唆された。しかしながら、ChM-I ノックアウトマウスでは、出生後に低代謝回転型の骨代謝を示し骨の代謝バランスがシフトした結果、骨量増加が認められた。すなわち、成体の骨において ChM-I がリモデリングファクターとして作用するという新たな機能が明らかになった。

一方、ChM-I に相同性を有する遺伝子としてクローニングした新規関連遺伝子 *Tenomodulin* (TeM) は、血管に乏しい腱・靱帯のみならず、血管侵入抵抗性組織として知られている眼の水晶体、角膜、強膜などの無血管領域に発現している。TeM の C 端側には、8 つのシステインを含む ChM-I 様ドメインが存在するが、ChM-I とは異なり furin のプロセッシングサイトである RXRR は見いだされない。そこで、COS7 細胞に FLAG-TeM 融合蛋白質を発現させ、Cell surface labeling を行ったところ、TeM は C 端側を細胞外ドメインとして発現する II 型の膜貫通蛋白質であることが明らかになった。また、TeM に分泌シグナルを導入し、TeM の ChM-I 様ドメインを含む領域を分泌蛋白としてアデノウイルスを用いて発現させたところ、*in vitro* で管腔形成、血管内皮細胞の増殖・遊走を阻害するのみならず、*in vitro* においても血管新生を阻害して腫瘍の増大を抑制する活性を有することが判明した。

2. ニワトリ胚を用いた組織血管化の分子機構に関する研究

発生過程においては、血管新生促進因子と血管新生抑制因子の発現が、時間的にも空間的にも巧妙に制御されることによって、秩序立った組織血管化が実現されると考えられる。我々は、胚操作の容易なニワトリ胚の卵黄

静脈から墨汁を注入することにより、簡便に血管系を可視化するモデルを構築した(図1, 図2)。また、墨汁を注入したニワトリ胚の *whole mount in situ hybridization* を行うことにより、血管新生に関与する遺伝子と血管網の確立過程を詳細に検討することに初めて成功した(図1)。これまでに、この方法を用いて、ニワトリ胚では *ChM-I* が軟骨だけでなく、体節・脊索、神経管の蓋板と底板、鰓弓、房室間の心内膜床などに発現し、これらの発現部位はいずれも血管網が分布しない無血管領域であることを明らかにしている。また、HH stage 14-15 の側板中胚葉にエレクトロポレーションによって *VEGF* を導入し、透過性の亢進した血管網の増生を墨汁によって可視化することにも成功しており、血管新生制御に関わる因子の役割を解析する非常に有用な系であることを示すことに成功した。

3. 軟骨分化制御の分子機構に関する研究

我々は、マウス EC 由来 ATDC5 を用いて *in vitro* 軟骨多段階分化モデルを構築した。軟骨分化の過程の一部を再現する *in vitro* 培養系は他にも報告されているが、未分化細胞から軟骨細胞への分化のみならず軟骨細胞の肥大化・石灰化を *in vitro* で効率良く再現する培養系は例を見ないことから、本培養系は軟骨分化を解析するスタンダードな系として国際的に用いられている。

この *in vitro* 軟骨分化多段階モデルを用いて、BMP-4 によって誘導される軟骨初期分化過程における遺伝子発現を SAGE(Serial Analysis of Gene Expression)法により網羅的に解析した。その結果、これまで知られていなかった BMP4 応答性の遺伝子群を同定することが出来ただけでなく、BMP4 に応答する遺伝子群がクラスターを作って染色体上に存在するという興味深い事実が明らかになった。このように、軟骨前駆細胞に軟骨分化を誘導することが出来る BMP4 による初期分化過程の全体像を明らかにすることに成功した。

4. 腱・靭帯分化制御の分子機構に関する研究

腱・靭帯は、栄養血管が極めて乏しいため、外傷などの瞬間的な外力によって、一旦、損傷されると、機能的、生体力学的に十分に再生させることは極めて困難で、その機能障害によって容易に関節症へ移行する。従って、整形外科領域では、腱や靭帯は軟骨と並んで組織再生の重要な標的となっている。しかしながら、腱や靭帯の組織形成の分子機構に関しては、これらの細胞を特徴づける分化マーカーがなかったため、これまで国内外を問わず、ほとんど解析がなされていないというのが現状である。一方、新規 *ChM-I* 関連遺伝子である *TeM* は、間葉系組織では、腱・靭帯に特異的に発現する膜貫通蛋白質であることが明らかになっているので、発生過程における *TeM* の発現局在をニワトリ胚にて詳細に解析した。既に、ニワトリ胚ではシンデトームのマーカーである basic HLH 転写因子 *scleraxis* が腱・靭帯前駆細胞と分化細胞の両方で発現していることが報告されている。*scleraxis* と異なり、*TeM* は腱・靭帯原基の形成とともに誘導され、前駆細胞での発現は検出されないことから、腱・靭帯の分化形質発現の新しい指標となると考えられる。また、培養細胞では分化能を保持した腱・靭帯細胞

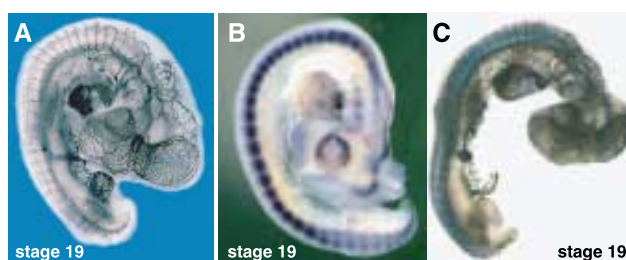


図1 ニワトリ胚における血管網の発達と *ChM-I* の発現局在
HH stage 19 のニワトリ胚の卵黄静脈から墨汁を注入し、血管網を可視化した(A)。 *whole mount in situ hybridization* の結果、HH stage 19 では、硬節、脊索、眼、鰓弓、心臓において、*ChM-I* の発現が検出された(B)。墨汁によって血管網を可視化したニワトリ胚を用いて *whole mount in situ hybridization* を行ったところ、*ChM-I* の発現は血管網とは排他的なパターンを示した(C)。

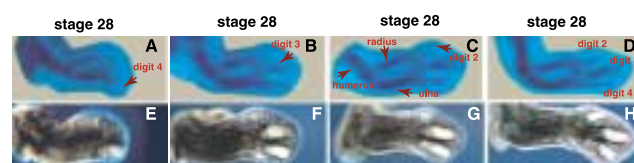


図2 軟骨性骨原基の形成に伴う血管網の縮退
HH stage 27 ~ 30 の前肢芽の骨格標本(A-D)と墨汁によって血管網を可視化した前肢芽(E-H)を比較した。各 digit の軟骨性骨原基の形成に伴って、血管網の縮退が認められた。

にのみ *TeM* の発現が検出されることから，腱・靱帯の細胞を特徴づける特異的表面マーカーとしての有効性が期待されている．（文責 宿南）

The proper growth and differentiation signaling from the surrounding extracellular environment regulates tissue formation and its functions. We are aiming at the elucidation of molecular interactions and signaling networks underlying bone and cartilage formation and vascularization.

1. Angiogenesis inhibitors involved in tissue-specific anti-angiogenic barriers.

Bone and muscle have well-developed vascular networks. In contrast, cartilage is avascular as well as resistant to vascular invasion. Similarly, tendons and ligaments are also known as the poorly vascularized tissue. Therefore, cartilage and tendon/ligament have been speculated to have the anti-angiogenic barriers that block invasion of blood vessels from the surrounding tissues.

We previously identified a cartilage-derived anti-angiogenic factor, chondromodulin-(ChM-I) based on the inhibitory activity for vascular endothelial cells. The local administration of recombinant human ChM-I almost completely blocked vascular invasion and tumor growth in the xenograft model of human chondrosarcoma OUMS-27. ChM-I is specifically expressed in the avascular zone of cartilaginous rudiments and has the activity to inhibit replacement of cartilage by bone induced BMP. These findings suggested that ChM-I participated in angiogenic switching of cartilage phenotype during bone formation. Surprisingly, no overt abnormality was detected in endochondral bone formation and cartilage development in *ChM-I*^{-/-} mice. However, a significant increase in bone mineral density with lowered bone resorption with respect to formation was unexpectedly found in adult *ChM-I*^{-/-} mice, suggesting that ChM-I acts as a bone remodeling factor.

Recently, we cloned *tenomodulin*(*TeM*) as a *ChM-I* related gene. Cell surface labeling revealed that *TeM* was expressed as a type II transmembrane protein, unlike ChM-I that was a secreted factor released from a larger precursor protein after cleavage with furin. *TeM* transcripts have been found in hypovascular tissues such as tendons, ligaments, epimysium of skeletal muscle, and sclera. Using an adenovirus expression system, we utilized the forced expression and subsequent secretion of the human *TeM* C-terminal 116 amino acids(Ad-sh*TeM*) in human umbilical vein endothelial cells(HUVECs) to assess the anti-angiogenic properties of *TeM*. The C-terminal 120 amino acids of the human ChM-I precursor(Ad-shChM-I) was also expressed in HUVECs as a comparison study. Transduction of both Ad-sh*TeM* and Ad-shChM-I resulted in significant impairment of the tube forming activity of HUVECs, when cultured in matrigel. In a modified Boyden chamber assay, migration of HUVECs in response to VEGF was significantly affected following transduction of either Ad-sh*TeM* or Ad-shChM-I. The transduction of either Ad-sh*TeM* or Ad-shChM-I in human melanoma cells resulted in suppression of tumor growth in association with decreased vessel density *in vivo*. Hence, we have demonstrated that, similarly to ChM-1, the C-terminal domain of *TeM* exhibits both anti-angiogenic and anti-tumor activities when expressed in a secreted form.

2. Molecular mechanism of tissue vascularization in chicken embryos

We successfully established visualization of vascular networks of chicken embryos from stage 19 to stage 30 by injecting India ink into the vitellin vein and compared localization of *ChM-I* transcripts with development of vascularity in combination with *in situ* hybridization. At stage 19, *ChM-I* was exclusively expressed from blood vessels in all the somites, the eyes, pharyngeal arches, notochord, and the heart. In association with the limb bud outgrowth from the

lateral plate mesoderm, development of vascular networks occurs by angiogenesis from the aorta, and *ChM-I* was detected as dot-like structure and correlates well with the avascular region of the chondrogenic condensations of the forelimbs from stage 23 to stage 25. From stage 26 to stage 30, *ChM-I* was detected at the avascular zones of all the cartilaginous rudiments. Thus, *ChM-I* is expressed in the avascular regions of noncartilaginous tissues prior to chondrogenesis. Later, *ChM-I* induction and expression was associated with appearance of avascular regions during chondrogenesis. Currently, we also succeeded in vascularization of increased vascular networks upon electroporation of *VEGF* in chicken forelimbs.

3. Regulatory mechanism of chondrogenesis.

We previously established the *in vitro* model of multistep chondrogenic differentiation using mouse EC cell line, ATDC5, which is currently used as one of the standard cell lines. Taking advantage of this *in vitro* model, we have performed Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) profiling of transcripts derived from ATDC5 cells before and after the induction of chondrogenesis by the treatment with BMP-4. A total of 43,656 SAGE tags (21,875 and 21,781 tags from the uninduced and induced libraries, respectively), corresponding to 17,166 unique transcripts, were analyzed. This transcriptome analysis predicted that a total of 139 transcripts are differentially expressed, reflecting multiple changes in activities of cell biological processes after the induction of chondrogenesis.

4. Regulatory mechanism of tendogenesis/ligamentogenesis.

Fibroblasts in tendons and ligaments *in vivo* are histologically distinct as characterized by the longitudinal rows of winged cells separated by extracellular matrix. However, these cells are almost indistinguishable from fibroblasts in loose connective tissues *in vitro* since their histological characteristics are lost. Due to a lack of the specific differentiation-markers, little is known about the molecular mechanism underlying tendogenic or ligamentogenic differentiation. We found that *TeM* transcripts were induced during tendogenesis/ligamentogenesis and specifically expressed *in vivo* in fibroblasts consisting of tendons, ligaments, and epimysium. *In vitro*, expression of *TeM* transcripts was detected in tenocytes (tendon fibroblasts) isolated from flexor tendons of chick embryos at stage 41 or 2-week old rats by trypsin and collagenase digestion. Thus, *TeM* may serve as a good phenotypic marker for tendons and ligaments, which provides us with an opportunity for understanding a mechanism underlying the formation and regeneration of these tissues.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Nakamichi, Y., Shukunami, C., Yamada, T., Aihara, K., Kawano, H., Sato, T., Nishizaki, Y., Yamamoto, Y., Shindo, M., Yoshimura, K., Kawaguchi, H., Hiraki, Y., Kato, S. : Chondromodulin-*I* (ChM-I) is a bone remodeling factor. *Mol. Cell. Biol.* **23**(2) : 636-644 (2003)
- Oshima, Y., Shukunami, C., Honda, J., Nishida, K., Tashiro, F., Miyazaki, J., Hiraki, Y., Tano, Y. : Expression and Localization of Tenomodulin, a Transmembrane Type Chondromodulin-I related Angiogenic Inhibitor, in Mouse Eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **44**(5) : 1814-1823 (2003)
- Kusafuka, K., Luyten, F. P., Bondt, R. D., Hiraki, Y., Shukunami, C., Kayano, T., Takemura, T. : Immunohistochemical

evaluation of cartilage-derived morphogenetic protein-1 and-2 in normal human salivary glands and pleomorphic adenomas. *Virchows Arch.* **442** : 482-490(2003)

Hayami, T., Funaki, H., Yaoeda, K., Mitui, K., Yamagiwa, H., Tokunaga, K., Hatano, H., Kondo, J., Hiraki, Y., Yamamoto, T., Endo, N. : Expression of the cartilage derived anti-angiogenic factor chondromodulin-I decreases in the early stage of experimental osteoarthritis. *J. Rheumatol.* **30**(10) : 2207-2217(2003)

Watanabe, N., Tezuka, Y., Matsuno, K., Miyatani, S., Morimura, N., Yasuda, M., Fujimaki, R., Kuroda, K., Hiraki, Y., Hozumi, N., Tezuka, K. : Suppression of differentiation and proliferation of early chondrogenic cells by Notch. *J. Bone Miner. Metab.* **21**(6) : 344-352(2003)

Wahl, M., Shukunami, C., Heinzmann, U., Hamajima, K., Hiraki, Y., Imai, K. : Transcriptome analysis of early chondrogenesis in ATDC5 cells induced by BMP4. *Genomics* **83**(1) : 45-58(2004)

Setoguchi, K., Masaki, Y., Kawahata, K., Shimada, K., Juji, T., Tanaka, S., Oda, H., Shukunami, C., Nishizaki, Y., Hiraki, Y., Yamamoto, K. : Chondromodulin-I, a cartilage-derived angiogenesis inhibitory factor, suppresses T cell response ; an implication of a therapeutic potential for arthritis. *Arthritis Rheumat.* *in press*(2004)

Oshima, Y., Sato, K., Tashiro, F., Miyazaki, J., Nishida, K., Hiraki, Y., Shukunami, C. : Anti-angiogenic action of the C-terminal domain of tenomodulin that shares homology with chondromodulin-I. *J. Cell Sci.* *in press*(2004)

2) 著書および総説

開 祐司 : 軟骨再生 . *Current Therapy* **21**(3) : 272-275(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Shukunami, C., Wahl, M., Heinzman, U., Hamajima, K., Hiraki, Y., Imai, K. : Transcriptome analysis of early chondrogenesis in ATDC5 cells induced by bone morphogenetic protein 4. Gordon Research Conference "Cartilage Biology & Pathology"(2003.3.16-20. Ventura)

近藤俊哉, 宿南知佐, 開祐司, 高橋玲, 吳 Junseo, 森岡洋子, 越前谷美智子, 川嶋聡史, 山本真子, 藤田明子, 松本直也, 北山仁志, 高橋智聡, 野田亮 : 軟骨分化における RECK および MMP の機能 . 第 56 回日本細胞生物学会大会(2003.5.14-16. 大津)

Oshima, Y., Shukunami, C., Tashiro, F., Miyazaki, J., Nishida, K., Hiraki, Y., Tano, Y. : Expression and anti-angiogenic function analysis of Tenomodulin, a tendon and eye specifically expressed glycoprotein sharing homology with Chondromodulin-I. The 75th Meeting of Association of Research in Vision and Ophthalmology(2003.5.4-9. Florida)

Sato, K., Kondo, J., Shibata, H., Shukunami, C., Takimoto, A., Nomizu, M., Nishi, N., Hiraki, Y. : Chondromodulin-I can be a substrate for matrix metalloproteinase-13. The 35th annual Meeting of Japanese Society for Connective Tissue Research & the 5th Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium(2003.6.3-7. Yamaguchi)

宿南知佐, 大島佑介, 開祐司 : 強靱結合組織に特異的に発現する Tenomodulin の Chondromodulin-I 様ドメインは血管新生抑制作用を示す . 日本発生物学会第 36 回大会(2003.6.11-13. 札幌)

角花美和, 滝本晶, 三浦重徳, 開祐司, 宿南知佐 : 血管新生抑制因子 Tenomodulin の結合組織形成過程における

発現パターン．日本発生生物学会第 36 回大会(2003.6.11-13. 札幌)

滝本晶，宿南知佐，開祐司：ニワトリ胚における血管網形成過程と chondromodulin-I の発現局在．日本発生生物学会第 36 回大会(2003.6.11-13. 札幌)

大島佑介，宿南知佐，田代文，宮崎純一，西田幸二，開祐司，田野保雄：Chondromodulin-I に相同性を有する新規膜蛋白 Tenomodulin(TeM)の C 末端機能ドメインによる血管新生抑制作用．第 106 回日本眼科学会総会(2003.5.23-26. 仙台)

Kondo, S., Shukunami, C., Hiraki, Y., Takahashi, R., Oh, J., Morioka, Y., Echizenya, M., Kawashima, S., Yamamoto, M., Fujita, A., Matsumoto, N., Kitayama, H., Takahashi, C., Noda, M.: Regulated Expression of RECK and MMPs are Important for Chondrogenesis. International Meeting on Angiogenesis in Cancer(2003.6.26-28. Reykjavik)

Shukunami, C., Oshima, Y., Hiraki, Y.: Anti-angiogenic properties of the C-terminal domain of tenomodulin that shares homology with condromodulin-I. International Meeting on Angiogenesis in Cancer(2003.6.26-28. Reykjavik)

Takabayashi, J., Hosokawa, Y., Masuhara, H., Miura, S., Shukunami, C., Hiraki, Y.: Bio-application of femtosecond laser ablation: Single manipulation of animal living cells. The XX1st International Conference on Photochemistry(2003.7.26-31. Nara)

Shukunami, C., Takimoto, A., Kakuhana, M., Hiraki, Y.: Tenomodulin is specifically expressed in dense connective tissue. The 62nd Annual Meeting of Society for Developmental Biology jointly with The International Society of Developmental Biologists(2003.7.30-8.3. Boston)

Nishizaki, Y., Shukunami, C., Hiraki, Y.: Cloning of Medaka(Oryzias latipes)Chondromodulin-I. The 62nd Annual Meeting of Society for Developmental Biology jointly with The International Society of Developmental Biologists(2003.7.30-8.3. Boston)

開祐司：軟骨分化の初期反応について．第 4 回運動器科学研究会(2003.8.22-23. 東京)

高林淳一，細川陽一郎，増原宏，三浦重徳，宿南知佐，開祐司：集光フェムト秒レーザービームを用いた単一生細胞の操作(4)- 緑色蛍光蛋白による細胞骨格蛋白の可視化 - ．2003 年秋季第 64 回応用物理学会学術講演会(2003.8.30-9.2. 福岡)

Hosokawa, Y., Takabayashi, H., Masuhara, H., Miura, S., Shukunami, C., Hiraki, Y.: Nondestructive Isolation of Single Cultured Animal Cells by Femtosecond Laser-Induced Shockwave. The 7th International Conference on Laser Ablation(2003.10.5-10. Crete)

Kudo, S., Mizuta, H., Nakamura, E., Takagi, K., Hiraki, Y.: PTH/PTHrP receptor(PTHrR)expression of mesenchymal progenitor cells in repair of full-thickness defects of articular cartilage: its relationship to chondrogenic potential. Eighth World Congress of the Osteoarthritis Research Society International(2003.10.12-15. Berlin)

近藤俊哉，宿南知佐，開祐司，高橋玲，呉 Junseo，森岡洋子，松本直也，北山仁志，高橋智聡，野田亮：軟骨分化における RECK および MMP の機能．第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.10-13. 神戸)

Nishizaki, Y., Shukunami, C., Hiraki, Y.: Cloning and expression analysis of Medaka(Oryzias latipes) Chondromodulin-I. 第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.10-13. 神戸)

三浦重徳，宿南知佐，開祐司：血管新生抑制因子 Chondromodulin-I の脱落膜における発現パターンとその変化．第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.10-13. 神戸)

角花美和, 滝本晶, 開祐司, 宿南知佐: 血管新生抑制蛋白 Tenomodulin は腱・靱帯分化に連動して発現する 第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.10-13. 神戸)

滝本晶, 宿南知佐, 開祐司: ニワトリ胚における血管網形成過程と chondromodulin-I の発現局在. 第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.10-13. 神戸)

Oshima, Y., Hiraki, Y., Tano, Y., Shukunami, C.: Anti-angiogenic action of a chondromodulin-I like domain of tenomodulin that is expressed in hypovascular dense connective tissues. Developmental Vascular Biology Workshop(2004.2.1-5. California)

西崎有利子, 宿南知佐, 開祐司: メダカ Chondromodulin-I は, 脊索, 耳胞, 頭蓋軟骨原基に発現する(In the Medaka(Oryzias latipes) embryo, chondromodulin-I transcripts are expressed in the notochord, otic vesicle and craniofacial cartilage rudiments). 第 17 回日本軟骨代謝学会(2004.3.12-13. 東京)

2) 講演・シンポジウム

開祐司: 間葉系幹細胞システムと軟骨再生 東京大学医学部付属病院ティッシュ・エンジニアリング部 第 1 回「再生医学と組織工学の連携強化のためのシンポジウム」(2003.1.17. 東京大学医学部付属病院)

宿南知佐: Transcriptome analysis of early chondrogenesis in ATDC5 cells induced by bone morphogenetic protein 4. 2003 Japan-Taiwan Symposium on Stem Cell and Tissue Engineering(2003.3.8. 京都)

宿南知佐, 開祐司: 組織特異的血管新生抑制因子コンドロモジュリン I とテノモジュリンの構造と活性. 第 4 回 Aging Science Forum(2003.4.3. 博多)

開祐司: 骨・軟骨再生と骨髄幹細胞システム. 第 1 回骨発生・再生研究会(2003.5.9. 慶応大学医学部 東京)

Yuji Hiraki: Tissue-specific angiogenesis inhibitors: chondromodulin-I and tenomodulin. JSPS and UCL Joint Seminar “Angiogenesis and Vascular Development Control” chaired by Prof Salvador Moncada(2003.6.30. London)

Furutani-Seiki, M., Sasado, T., Morinaga, C., Suwa, H., Niwa, K., Henich, T., Ramialison, M., Osada, Y., Watanabe, T., Kitagawa, D., Saito, K., Asada, S., Deguchi, T., Yoda, H., Hirose, Y., Yasuoka, A., Iwanami, N., Kunimatsu, S., Osakada, M., Hani, A., Nishina, H., Abe, K., Takahama, Y., Takahashi, H. K., Hiraki, Y., Mitani, H., Todo, T., Tanaka, M., Wittbrodt, J., Kondoh, H.: A genome-wide screen for mutations affecting embryonic pattern formation in Medaka, *Oryzias latipes*. International Symposium “Mutants, signaling, and differentiation” sponsored by Kondoh Differentiation Signaling Project, ERATO JST Corporation(2003.9.12. 京都)



生体材料学分野 Department of Biomaterials

分野主任 教授 田畑 泰彦

Prof. Yasuhiko Tabata

【研究概要】

本研究分野の目的は、医療に应用可能あるいは基礎生物医学研究に役立つ方法、手段、および技術を材料科学の立場に立って研究開発していくことである。生体材料とは、体の中で使用したり、あるいはタンパク質、細胞などの生体成分と直接に接触する状況で用いられる材料のことであり、本研究分野においては、高分子を主体とした生体材料のデザインと創製を行い、それらの材料の医療、生物医学への応用を目指している。具体的には、再建外科治療のアシスト用生体材料あるいは薬物・遺伝子治療、予防ワクチン、および診断効率の向上を目指したドラッグデリバリーシステム(DDS)あるいは分子生物学、細胞培養、および幹細胞研究のための生体材料についての研究開発を行っている。

再建外科治療をアシストする生体材料の生体適合性はまだまだ低く、その代行できる機能も単一であることから、患者に高いQuality of Life(QOL)を与えることが困難である場合が多い。また、臓器移植もドナー不足に加えて、免疫拒絶抑制剤の副作用にともなう問題もある。このように、再建外科と臓器移植との現在の2大先端外科治療に限界が見えてきている状況の中で生まれてきたのが、細胞を利用して生体の治癒力を高め、生体組織を再生しようという試みである。この試みが医療応用できるようになれば、再建外科と臓器移植治療に続く第3の治療法となることは疑いない。この再生医療は生体材料に依存しない点、免疫抑制剤を必要としない点で前2者とは異なる。再生医療の目的は、細胞を利用した生体組織の再生と臓器機能の代替による病気の治療である。この実現には、再生現象にかかわる増殖・分化ポテンシャルの高い幹細胞の生物医学研究が必要であることはいうまでもないが、それに加えて、細胞に生体組織の再生を誘導する環境(場)を与えることが不可欠である。この再生誘導の場を構築するための医工学技術・方法論が生体組織工学である。生体組織工学の基本アイデアは、生体組織の構成成分である細胞、細胞の増殖・分化のための足場、および細胞増殖因子をうまく組み合わせることで、生体組織の再生誘導を行うことである。このためには生体材料の利用が必要不可欠であり、特に、生体内で分解吸収され消失する材料(生体吸収性材料)と3つの要素とを組み合わせ、生体組織の再生を誘導する。金属、セラミックスにこの生体吸収性をもたせることは難しく、この観点から、生体組織工学では主として高分子材料が利用されている。生体吸収性材料の利点は、材料の生体内での役割が果たされた後にその場から消失するため、再び取り出す必要がなく、また、材料の存在が生体組織・臓器の再生を妨げないことである。DDSおよび生物医学研究のための材料にも生体吸収性が要求される場合が多い。

本研究分野では、生体吸収性の高分子材料を中心とした生体組織・臓器の再生誘導療法(再生医療)のための生体材料、薬物、遺伝子治療、予防、診断、などに必要なDDSのための生体材料、分子生物学、細胞培養、幹細胞研究のための生体材料、あるいは外科および内科治療補助のための生体材料の研究を行っている。以下にその内容をより詳しく述べる。

1) 生体組織の再生誘導治療のための生体材料

血液細胞以外のほとんどの細胞は、生体内では細胞外マトリックスと呼ばれる増殖・分化のための足場材料に接着して存在している。生体組織が大きく欠損した場合には、この足場も失われるため、欠損部に細胞のみを補うだけでは組織の再生は望めない場合が多い。そこで、再生を期待する部位に細胞の増殖・分化のための仮の足場を供給する必要がある。本研究分野では、この細胞の足場としての3次元あるいは多孔質構造をもつ生体吸収性の成形体(人工細胞外マトリックス)をデザイン、創製している。しかしながら、いかに足場が優れていても、細胞の数が少なかったり、細胞を増殖させるための生体シグナル物質が足りなければ、生体組織の再生は望めないであろう。このような場合、細胞の増殖・分化を促す細胞増殖因子を用いるのが1つの現実的な解決法である。しかしながら、これらの因子はタンパク質であり、生体内での寿命が短く不安定であるため、その利用には工夫が必要である。たとえば、生体吸収性材料に細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を包含させ、再生部位で徐々に放出(徐放)すれば、これによって生体組織・臓器の再生は促進される。本研究分野では、この徐放化担体のための生体材料をデザイン、創製している。一般に、慢性疾患では病的部位は線維性組織で占められ、臓器機能が不全に陥っていることが多い。そこで、薬物、遺伝子を用いて、線維性組織を消化分解し、周辺正常組織の再生誘導を促すことによって、慢性疾患の治療を行うことができる。本研究分野では病的部位への薬物・遺伝子のターゲティングによる内科的再生誘導治療も行っている。



2) 幹細胞工学および基礎生物医学研究のための生体材料

再生医療の基本となるのは細胞であり、幹細胞、前駆細胞、および芽細胞などの単離、増殖、分化などに関する細胞培養技術が必要となることはいうまでもない。従来の細胞培養技術に加えて、種々の生体材料あるいは培養装置の組み合わせが不可欠である。この研究は、再生医療を目指した幹細胞の利用だけでなく、幹細胞の基礎生物医学研究に用いる生体材料、技術、方法論などへの適用も可能であり、この方向性についての研究開発も進めている。

3) DDSのための生体材料

薬物が効くのは、薬物がその作用部位に適切に作用するからである。しかしながら、現実には、薬物は部位選択性がなく、その薬理作用を発現させるために大量投与が行われている。これが薬物の副作用の主な原因である。そこで、薬物を必要な部位へ、必要な濃度で、必要な時期にだけ働かせるための試みが行われている。これが DDS であり、その目的は薬物の徐放化、薬物の長寿命化、薬物の吸収促進、および薬物のターゲティングなどである。いずれの目的にも、薬物を修飾するための生体材料が必要である。本研究分野では、生体材料学の観点からの薬物、遺伝子治療のための DDS 研究を行っている。加えて、全身あるいは局所、粘膜ワクチン、核磁気共鳴イメージング(MRI)、超音波診断などに対しても、その予防ワクチンおよび診断効果を高めるためには DDS 的工夫が不可欠であり、予防および診断医学に対する DDS の研究開発も行っている。

4) 外科・内科治療アシストのための生体材料

本研究分野は、高分子材料を医療に応用していくという、本研究所の前身である生体医療工学研究センターの材料科学研究の流れを引いている。その中で、生体内で吸収する性質をもつ高分子材料を中心として、外科・内科治療の補助のための生体材料の研究開発を行っている。

上記の研究内容について、材料科学的な観点から、基礎研究を行い、得られた研究成果を基に、皮膚、骨、心臓冠動脈、脂肪、軟骨、神経、歯周組織、毛髪、心筋、腎臓などの組織、臓器の再生、あるいは DDS を用いた薬物治療、予防、診断、加えて、生物医学研究のための生体材料などについて、医学部、歯学部、企業との共同研究を通して、応用開発研究を展開している。

The main objective of our department is to investigate and develop methods, procedures, and technologies applicable to basic and clinical medicines as well as basic biology on the basis of material sciences. The materials to use in the body and to contact biological substances, like proteins and cells, are defined as biomaterials. In our department, various types of biodegradable and non-biodegradable biomaterials of polymers are designed and created aiming at their clinical applications and the scientific development of basic medicine and biology for stem cells. We investigate the biomaterials to assist reconstructive surgery and to apply to drug delivery systems(DDS) or improved therapeutic efficacy. However, it is often difficult for patients to improve their Quality of Life(QOL) only by the reconstructive surgery procedure because the biomaterials used are of poor biocompatibility and functional substitution. For organ transplantation, there are several problems to be resolved, such as the lack of donor organ and the reverse effects of immunosuppressive agents. The two present medicines of up-to-date are clinically limited for medical therapy. Under such circumstance, one therapeutic approach newly emerging is regenerative medicine. The objective is to regenerate injured or lost tissues and to substitute organ functions by making use of cells. The regenerative medicine is quite different from the reconstructive surgery and organ transplantation from the viewpoint of no use of medical devices and no need of immunosuppressive agents, respectively. The basic idea of regenerative medicine is to give cells an environment site suitable to induce the regeneration of tissue and organ. The technology and methodology to create the environment of regeneration induction are named tissue engineering. Generally, there are three factors necessary for tissue engineering, such as cells, the scaffold for cell proliferation and differentiation, and growth factors. For successful regenerative therapy of tissue and organ, it is indispensable to efficiently take advantage of various biomaterials for recombination of all the factors. Especially, biodegradable biomaterials play an important role in this medical applications. Since there are few metals and ceramics with biodegradable nature,

polymer materials of biodegradability have been mainly used for this purpose. If a biomaterial is degraded to disappear in the body accompanied with its action accomplishment, it is not necessary to consider retrieval of the material from the body. In addition, it is likely that the material degradation of right time does not physically impair tissue regeneration. There are some cases where biodegradable biomaterials are required for the application of DDS and basic medical biology.

Our research goal is to design and create biomaterials mainly from polymers which are practically applicable for regenerative medicine, stem cell technology, DDS, and medical therapy of reconstructive surgery and internal medicine. More detailed explanation about every projects are described.

1) Biomaterials for regenerative medicine

It is well recognized that cells are present in the living tissue adhering onto the natural scaffold for cell proliferation and differentiation or morphogenesis, namely extracellular matrix (ECM). When the body tissue is largely lost, the ECM itself will also disappear. In such a case, we cannot always expect the tissue regeneration at the large defect only by supplying cells to the defect. One way necessary for successful tissue regeneration is to provide a temporary scaffold for the proliferation and differentiation of cells to the defect. We are designing and creating 3-dimensional and porous constructs of biodegradability as this temporary cell scaffold which is an artificial ECM. However, even if a superior scaffold is supplied to the tissue defect, the tissue regeneration will not be achieved without sufficient number of cells and the amount of cell proliferation signals. It is one of the practically possible ways to use growth factors for promoted proliferation and differentiation of cells. It is, however, necessary for in vivo use of growth factors to contrive their administration form because of the in vivo instability. One possible way is the controlled release of growth factor or its related gene at the site of tissue regeneration over an extended time period by incorporating the factor into an appropriate carrier. This release technology will enable the growth factor to efficiently exert the biological activity, resulting in promoted tissue regeneration. We are designing and preparing the release carrier from biodegradable biomaterials. Generally, in the chronic fibrotic disease, an organ is often occupied with the fibrous tissue, which causes organ dysfunction. It is highly possible that if the fibrosis is enzymatically digested by a proper way, the fibrotic site is naturally regenerated based on the natural regenerative potential of the surrounding normal cells and the organ function is eventually recovered. We are preparing the targeting system based on polymers with an organ affinity to achieve the regenerative therapy for chronic disease (physical regenerative medicine).

2) Biomaterials for stem cells technology and basic researches of medicine and biology

It is no doubt that cells are key to clinically realize regenerative medicine. Thus, it is of prime importance to improve the procedure and technology for isolation, proliferation, and differentiation of cells which have a high potential of proliferation and differentiation, such as stem cells, precursors, and blastic cells. For this purpose, many types of biomaterials and the technology of cell culture to manipulate cells are required. In this department, various biomaterials and the technology and methodology related to stem cells, precursors, and blastic cells are being explored to effectively take advantage of the cells for regenerative medicine as well as to develop materials, technologies, and methodology for basic researches of medicine and biology.

3) Biomaterials for DDS

Generally there are few drugs which have a specific selectivity for the site of action. Therefore, the high-dose administration of drugs is necessary to achieve their in vivo therapeutic efficacy, while this often causes the adverse

effects of drugs. DDS is a trial which allows a drug to act at the right time the right site of action at the necessary concentration. The objective of DDS includes the controlled release of drug, the prolongation of drug life-time, the acceleration of drug absorption, and the drug targeting. Various biomaterials are inevitably required to achieve every DDS objective. In this department, various research projects of DDS for drug and gene therapies are carried out from the viewpoint of polymer material science. The DDS technology and methodology are also needed to enhance the in vivo efficacy of vaccination or magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasound diagnosis. We also focus on the DDS research for prophylactic and diagnostic applications.

4) Biomaterials for surgical and physical therapy

This department is partly originated from the division of Molecular Design and Biomaterials of the former Research Center for Biomedical Engineering where the medical applications of polymer materials have been investigated extensively. Among the research activities, we continue to design and create biomaterials from biodegradable polymers aiming at their assistance in surgical and physical therapies.

From the viewpoint of biomaterial sciences, we are pursuing comprehensive researches on the scaffold for the cell proliferation and differentiation, the DDS of growth factors, and the material technology to use stem, precursor, and blast cells. Through R&D collaborations with various medical and dental schools and private companies, we are planning to apply our research results to concrete clinical trials in terms of tissue and organ regeneration, such as the skin, fat, bone, cartilage, nerve, hair, blood vessels, periodontium, myocardium, and kidney and the DDS applications for therapeutic, prophylactic, and diagnostic medicines, while we are developing some biomaterials for basic researches of medicine and biology.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Yamamoto, M., Sakakibara, Y., Nishimura, K., Komeda, M., and Tabata, Y.: Improved therapeutic efficacy in cardiomyocyte transplantation for myocardial infarction with release system of basic fibroblast growth factor. *Artif. Organ.* **27(2)**: 181-184(2003)

Yamamoto, M., Takahashi, Y., and Tabata, Y.: Controlled release of bone morphogenetic protein by biodegradable hydrogels induces the promoted osteoinductive effect. *Biomaterials.* **24(24)**: 4375-4383(2003)

Hosseinkhani, H., Tabata, Y.: In vitro gene expression by cationized derivatives of an artificial protein with repeated RGD sequences, Pronectin®. *J. Control. Release.* **86(1)**: 169-182(2003)

Hosseinkhani, H., Aoyama, A., Ogawa, O., Tabata, Y.: Tumor targeting of gene expression by dextran conjugation based on metal coordination. *J. Control. Release.* **88(2)**: 297-312(2003)

Hosseinkhani, H., Azzama, T., Tabata, Y., and Domb, A.J.: Dextran-spermine polycation an efficient nonviral vector for in vitro and in vivo gene transfection. *Gene Therapy*, 2003 in press.

Ozeki, M., and Tabata, Y.: In vivo promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors. *Biomaterials.* **24(13)**: 2387-2394(2003)

Kushibiki, T., Tomoshige, R., Fukunaka, Y., Kakemi, M., and Tabata, Y.: In vivo release and gene expression of

- plasmid DNA by hydrogels of gelatin with different cationization extents. *J. Control. Release.* **90(2)**: 207-216 (2003)
- Kimura, Y., Ozeki, M., Inamoto, T., and Tabata, Y.: Adipose tissue engineering based on human preadipocytes combined with gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor. *Biomaterials.* **24(14)**: 2513-2521(2003)
- Takahashi, Y. and Tabata, Y.: Homogeneous seeding of mesenchymal stem cells into nonwoven fabric for tissue engineering. *Tissue Eng.*, **9(5)**: 931-938(2003)
- Hiraoka, Y., Kimura, Y., Ueda, H., and Tabata, Y.: Fabrication and biocompatibility of collagen sponge reinforced with poly(glycolic acid) fiber. *Tissue Eng.*, **9(6)**: 1101-1112(2003)
- 平岡陽介, 萬代佳宣, 伊藤典一, 田畑泰彦: 生体組織再生用の足場材料の設計・作製. *細胞*. **35**: 144-146(2003)
- Aoyama, T., Yamamoto, S., Kanematsu, A., Ogawa, O., and Tabata, Y.: Local delivery of matrix metalloproteinase gene prevents the onset of renal sclerosis in streptozotocin-induced diabetic mice. *Tissue Eng.* **9(6)**: 1289-1299 (2003)
- Kanematsu, A., Yamamoto, S., Noguchi, T., Ozeki, M., Tabata, Y., and Ogawa, O.: Bladder regeneration by bladder acellular matrix combined with sustained release of exogenous growth factor. *J. Urol.* **170**: 1633-1638(2003)
- Kanematsu, A., Yamamoto, S., Ozeki, M., Noguchi, T., Kanatani, I., Ogawa, O., and Tabata, Y.: Collagenous matrices as release carriers of exogenous growth factors. *Biomaterials*, 2003 in press.
- Hatano, T., Miyamoto, S., Kawakami, O., Yamada, K., Hashimoto, N., and Tabata, Y.: Acceleration of aneurysm healing by controlled release of basic fibroblast growth factor with the use of polyethylene terephthalate fiber coils coated with gelatin hydrogel. *Neurosurgery.* **53(2)**: 393-400(2003)
- Konishi, M., Tabata, Y., Kariya, M., Suzuki, A., Mandai, M., Nanbu, K., Takakura, K., and Fujii, S.: In vivo antitumor effect thorough the controlled release of cisplatin from biodegradable gelatin hydrogel. *J. Control. Release.* **92(3)**: 301-313(2003)
- Yamashiro, H., Inamoto, T., Yagi, M., Ueno, M., Kato, H., Takeuchi, M., Miyatake, S., Tabata, Y., and Yamaoka, Y.: Efficient proliferation and adipose differentiation of human adipose tissue-derived vascular stromal cells transfected with basic fibroblast growth factor gene. *Tissue Eng.*, **9(5)**: 881-892(2003)
- Oe, S., Fukunaka, Y., Hirose, T., Yamamoka, Y., and Tabata, Y.: A trial on regeneration therapy of rat liver cirrhosis by controlled release of hepatocyte growth factor. *J. Control. Release.* **88(2)**: 193-200(2003)
- Iwakura, A., Fujita, M., Kataoka, K., Tambara, K., Sakakibara, Y., Komeda, M., and Tabata, Y.: Intramyocardial sustained delivery of basic fibroblast growth factor improves angiogenesis and ventricular function in rat infarct model. *Heart Vessels.* **18(2)**: 93-99(2003)
- Iwakura, A., Tabata, Y., Koyama, T., Doi, K., Nishimura, K., Kataoka, K., Fujita, M., Komeda, M.: Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances sternal healing after harvesting bilateral internal thoracic arteries. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **126(4)**: 1113-20(2003)
- Sakakibara, Y., Tambara, K., Sakaguchi, G., Lu, F., Yamamoto, M., Nishimura, K., Tabata, Y., Komeda, M.: Toward surgical angiogenesis using slow-released basic fibroblast growth factor. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, **24(1)**: 105-112(2003)
- Nakase, H., Okazaki, K., Tabata, Y., Chiba, T.: Biodegradable microspheres targeting mucosal immune-regulating

- cells : new approach for treatment of inflammatory bowel disease. J. Gastroenterol. **38 Suppl 15** : 59-62(2003)
- Ueda, H., Nakamura, T., Yamamoto, M., Nagata, N., Fukuda, S., Tabata, Y., and Shimizu, Y. : Repairing of rabbit skull defect by dehydrothermally crosslinked collagen sponges incorporating transforming growth factor β 1. J. Control. Release. **88(1)** : 55-64(2003)
- Ueda, H., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y. : Repairing of rabbit skull defect by TGF- β 1-incorporated collagen sponges of different thickness. J. Biomedical Eng., **15** : 1-7(2003)
- Nakahara, T., Nakamura, T., Kobayashi, E., Inoue, M., Shigeno, K., Tabata, Y., Eto, K., and Shimizu, Y. : Novel approach to regeneration of periodontal tissues based on in situ tissue engineering : the effects of controlled release of basic fibroblast growth factor from a sandwich membrane. Tissue Eng., **9(1)** : 153-162(2003)
- Yamamoto, T., Hayakawa, K., Tabata, Y., Shimizu, Y., and Ikada, Y. : Transcatheter arterial embolization using poly-L-lactic acid microspheres. Radiat. Med., **21(4)** : 150-154(2003)
- Okamoto T, Yamamoto Y, Gotoh M, Liu D, Kihara M, Kameyama K, Hayashi E, Nakamura K, Yamauchi, A., Huang, CL., Yokomise, H., Yamamoto, M., Nakamura, T., Shimizu, Y., Tabata, T. : Cartilage regeneration using slow release of bone morphogenetic protein(BMP)2 from a gelatin sponge to treat experimental canine tracheomalacia. ASAIO J. **49(1)** : 63-69(2003)
- Okamoto T, Yamamoto Y, Gotoh M, Huang, CL., Nakamura, T., Shimizu, Y., Tabata, T., and Yokomise, H. : Slow release of bone morphogenetic protein 2 from a gelatin sponge to promote regeneration of tracheal cartilage in a canine model. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2003 in press.
- Yamamoto, Y., Okamoto, T., Gotoh, M., Yokomise, H., Yamamoto, M., Tabata, Y. : Experimental study of bone morphogenetic proteins-2 slow release from an artificial trachea made of biodegradable materials. ASAIO J. **49(5)** : 533-538(2003)
- 横見瀬裕保, 岡本 卓, 後藤正司, 山本恭通, 田畑泰彦 : 臍胸の新しい治療法の開発 結核 **78(9)** : 597-600(2003)
- 佐生泰美, 川添 剛, 郷司みちよ, 鈴木茂彦, 田畑泰彦, 富畑賢司, 森田真一郎 : Cell-preconfluent 培養皮膚への徐放性 bFGF 添加効果 . 日本熱傷学会会誌 . **29** : 14-20(2003)
- Iwanaga, K., Yabuta, T., Kakemi, M., Morimoto, K., Tabata, Y., and Ikada, Y. : Usefulness of microspheres composed of gelatin with various cross-linking density. J. Microencapsul. **20(6)** : 767-776(2003)
- Watanabe, N., Ikuta, K., Okazaki, K., Nakase, H., Tabata, Y., Matsuura, M., Tamaki, H., Kawanami, C., Honjo, T., and Chiba, T. : Elimination of local macrophages in the intestine prevents chronic colitis in interleukin-10deficient mice. Dig. Dis. Sci., **48(2)** : 408-414(2003)
- Balamurugan, A.N. Gu, Y., Wang, W., Miyamoto, M., Inoue, K., and Tabata Y. : Streptozotocin(STZ)s commonly used to induce diabetes in animal models. Pancreas. **26(1)** : 102-103(2003)
- Balamurugan, A.N., Gu, Y., Miyamoto, M., Hori, H., Inoue, K., and Tabata Y. : Effect of hepatocyte growth factor (HGF)s a mitogen and an insulintropic agent for fetal islet cells in vitro. Pancreas. **26(1)** : 103-104(2003)
- Balamurugan, A.N., Gu, Y., Tabata, Y., Miyamoto, M., Cui, W., Hori, H., Satake, A., Nagata, N., Wang, W., and Inoue, K. : Bioartificial pancreas Transplantation at prevascularized intermuscular space. Pancreas. **26(3)** : 279-285(2003)
- Yoshida, S., Yamaguchi, Itami, S., Yoshikawa, K., Tabata, Y., Matsumoto, K., and Nakamura, T. : Neutralization of hepatocyte growth factor leads to retarded cutaneous wound healing associated with decreased

- neovascularization and granulation tissue formation. J. Invest. Dermatol., **120**(2): 335-343(2003)
- Kasahara, K., Tanaka, E., Fukuyama, N., Sato, E., Sakamoto, H., Tabata, Y., Ando, K., Iseki, H., Shinozaki, Y., Kimura, K., Kuwabara, E., Koide, S., Nakazawa, H., and Mori H.: Biodegradable gelatin hydrogel potentiates the angiogenic effect of FGF4 plasmid in rabbit hindlimb ischemia. J. Am. College of Cardiology. **41**(6): 1056-1062 (2003)
- Saito, A., Kazama, J., Iino, N., Cho, K., Sato, N., Yamazaki, H., Oyama, Y., Orlando, R.A., Shimizu, F., Tabata, Y., and Gejyo, F.: Bioengineered implantation of megalin-expressing cells: A potential intracorporeal therapeutic model for uremic toxin protein clearance in renal failure. J. Am. Soc. Nephrology. **14**(8): 2025-2032(2003)
- Nagaya, N., Kangawa, K., Kanda, M., Uematsu, M., Hori, T., Fukuyama, N., Hino, J., Harada-Shiba, M., Okumura, H., Tabata, Y., Mochizuki, N., Chiba, Y., Nishioka, K., Miyatake, K., Asahara, T., Hara, H., and Hori H.: Hybrid cell-gene therapy for pulmonary hypertension based on phagocytosing action of endothelial progenitor cells. Circulation. **108**(7): 889-895(2003)
- Holland, T.A., Tabata, Y., and Mikos, A.G.: In vitro release of transforming growth factor- β 1 from gelatin microparticles encapsulated in biodegradable, injectable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels. J. Control. Release. **91**(3): 299-313(2003)
- Liu, L., Sakaguchi, T., Kanda, T., Hitomi, J., Tabata, Y., and Hatakeyama, K.: Delivery of interleukin-12 in gelatin hydrogels effectively suppresses development of transplanted colonic carcinoma in mice. Cancer Chemother Pharmacol., **51**(1): 53-7(2003)

2) 著 書

- 田畑泰彦：再生医療を実用化するための基盤技術。「ここまで進んだ再生医療の実践」(田畑泰彦，羊土社，東京)18-26(2003)
- 田畑泰彦：ドラッグデリバリーシステム概念の変貌。「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦，株式会社メディカルドゥ，大阪)13-16(2003)
- 田畑泰彦：免疫化学療法と DDS。「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦，株式会社メディカルドゥ，大阪)146-153(2003)
- Tabata, Y.: Tissue engineering by release technology based on biodegradable polymer hydrogel, Advances in Biomaterials and Drug Delivery Systems(Hsiue, G.H., Okano, T., Kim, U.H., Sung, H.W., Yui, N., and Park K.D., Eds., Princeton International Publishing Co., Ltd.)481-498(2003)
- 田畑泰彦：再生医療におけるバイオマテリアルの重要性。「先端化学シリーズ 糖鎖/バイオマテリアル/分子認識/バイオインフォマティクス」(日本化学会編，丸善株式会社，東京)164-171(2003)
- 田畑泰彦：ドラッグデリバリーシステム - インテリジェント材料・技術の最新開発動向 -。「インテリジェント材料」(システムフォーラム編，株式会社シーエムシー出版，東京)84-92(2003)
- 田畑泰彦：細胞増殖の足場(Scaffold)と細胞増殖因子の DDS 技術による組織再生誘導。「先端医療シリーズ 2・整形外科，整形外科の最新医療」(株式会社厚徳社出版，東京)114-118(2003)
- 田畑泰彦：ナノメディシンとしてのフラレンの展開。「ナノバイオテクノロジーの最前線」(植田充美監修，シーエムシー出版，東京)332-339(2003)
- 山本雅哉，田畑泰彦：骨組織の再生。「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑

泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)146-153(2003)

山本雅哉, 田畑泰彦: 遺伝子治療とターゲティング. 「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)238-244(2003)

櫛引俊宏, 山本雅哉, 友重龍治, 田畑泰彦: 遺伝子徐放化ハイドロゲルの作製. 「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)268-270(2003)

宮本 享, 波多野武人, 山田圭介, 田畑泰彦: 脳動脈瘤塞栓術 - 細胞増殖因子の徐放による脳動脈瘤の器質化! ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法 (田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)189-193(2003)

松浦 稔, 岡崎和一, 田畑泰彦, 仲瀬裕志, 渡部則彦, 玉置敬之, 千葉 勉: 炎症性腸疾患に対する新たな治療法の試み - Microsphere を用いた drug delivery system の開発 - . 「消化器と免疫 No.39, 2002」(朝倉 均, マイライフ社, 東京)19-22(2003)

丹原圭一, 田畑泰彦, 米田正始: 心臓血管領域の再生医療 - 徐放化ペプチドを用いた局所療法 - . 「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)131-135(2003)

高松聖仁, 越宗 勝, 中塚洋直, 山本雅哉, 田畑泰彦: 末梢神経の再生医療 - 理想の人工神経と DDS について - . 「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)161-167(2003)

斎藤亮彦, 竹田徹朗, 下条文武, 田畑泰彦: 血管新生の誘導と細胞移植. 「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)185-188(2003)

藤井隆文, 永谷憲蔵, 徳永宜之, 神田宗武, 福山直人, 田中越朗, 田畑泰彦, 浅原孝之, 盛 英三: ゼラチンによる遺伝子の徐放化と細胞 - 遺伝子ハイブリッド治療への応用. 「ドラッグデリバリーシステム DDS 技術の新たな展開とその活用法」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)194-199(2003)

3) 総 説

Tabata, Y., : Tissue regeneration based on growth factor release, Tissue Eng., 9, S5-S15(2003)

田畑泰彦: ティッシュエンジニアリング - 組織再生誘導のための基盤技術開発 - . 最新医学, 58(1): 49-56(2003)

田畑泰彦: スキャフォールド(Scaffold). THE BONE, 17(1): 29-24(2003)

田畑泰彦: ティッシュエンジニアリングのための細胞増殖因子の放出制御. 生体材料, 21(1): 13-23(2003)

田畑泰彦: 生体組織工学をベースとした再生医療の現状と展望. 日皮協ジャーナル, 25(2): 37-45(2003)

田畑泰彦: 再生医療の実用化を支える組織工学の意義. 日本臨床, 61(3): 411-416(2003)

田畑泰彦: 生体組織工学と骨再生. 現在医療の最前線(前編) - 再生療法と細胞療法 - . 最新医学, 58(3): 250-260(2003)

田畑泰彦: 再生医療の現状と可能性. Medicament News, 1766: 38-39(2003)

田畑泰彦: 再生医療. がん看護, 8(3): 252-253(2003)

田畑泰彦: 細胞成長因子の動態制御と幹細胞移植とを用いた再生医療. 臨床薬理, 34(3): 475S-476S(2003)

田畑泰彦: 再生医工学の臨床応用 - 現状と将来 - . 病理と臨床, 21(7): 714-724(2003)

田畑泰彦: 再生医療の最先端 - 生体組織工学と再生医療 - . TOYOBO BIOCHEMICALS, 73: 17-18(2003)

山本雅哉, 田畑泰彦: 細胞増殖因子の徐放化による骨組織の再生. 日本再生医療学会雑誌, 2: 19-26(2003)

- Hosseinkhani, H., Aoyama, A., Ogawa, O., Tabata, Y.: Ultrasound enhances the transfection of plasmid DNA by non-viral vector. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. **4**: 109-122(2003)
- Ueda, H., Tabata, Y.: Polyhydroxyalkanoate derivatives in current clinical applications and trials. *Advanced Drug Delivery Review*. **55**: 501-18(2003)
- 中野貴由, 土田裕基, 石本卓也, 藤谷 渉, 馬越祐吉, 出口博史, 山本 融, 野口真一, 山本雅哉, 川上 理, 田畑泰彦, 山本敏男: 生体硬組織への結晶学的アプローチ. *Boundary*. **19(9)**: 16-20(2003)
- 中原 貴, 中村達雄, 田畑泰彦, 江藤一洋, 清水慶彦: In situ tissue engineering による歯周組織の再生. *Inflammation and Regeneration*. **23(2)**: 116-121(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 山本雅哉, 田畑泰彦: 生体吸収性ハイドロゲルを用いた徐放化細胞増殖因子による血管新生. 京大臨床心血管再生研究会第1回シンポジウム(2003.2.21. 京都)
- Yamamoto, M., Jo, J., Aoyama, T., Hosseinkhani, H., Ogawa, O., and Tabata, Y.: Liver Targeting of Hepatocyte Growth factor gene prevents the onset of fulminant hepatic failure in mouse. International symposium on fusion of nano and bio technologies(2003.3.9-10. Tsukuba)
- Yamamoto, M., Jo, J., Aoyama, T., Hosseinkhani, H., Ogawa, O., and Tabata, Y.: Liver Targeting of Hepatocyte Growth factor gene prevents the onset of chemically induced hepatic diseases in rodents. The first international congress on bio-nanointerface(2003.5.19-24. Tokyo)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 山田圭介, 田畑泰彦: 豊長類における徐放化骨形成因子による骨再生の増強. 第6回 日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 山田圭介, 田畑泰彦: 種々の動物種における徐放化骨形成因子による骨欠損部再生の比較. 第19回日本DDS学会(2003.6.19-20. 京都)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 山田圭介, 田畑泰彦: 異なる動物種における徐放化骨形成因子の骨再生誘導能の比較. 第12回硬組織生物学会総会(2003.9.13. 大阪)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 山田圭介, 田畑泰彦: 徐放化骨形成因子によるカニクイザル頭蓋骨欠損部の骨再生の増強. 第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- Yamamoto, M., Takahashi, Y., Yamada, K., and Tabata, Y.: Potentiated bone induction by controlled release of BMP-2 from biodegradable hydrogel in different animal species. 6th International conference and exposition the tissue engineering society international(2003.12.10-13. Orlando)
- Hosseinkhani, H., Tabata, Y. In vitro gene expression by cationized derivatives of an artificial protein with repeated RGD sequences, Pronectin®. International symposium on fusion of nano and bio technologies(2003.3.9-10 Tsukuba)
- Hosseinkhani, H., Tabata, Y.: In vitro gene expression by cationized derivatives of an artificial protein with repeated RGD sequences, Pronectin®. 第19回日本DDS学会(2003.6.19-20. 京都)
- Hosseinkhani, H., Azzam, T., Tabata, T., Domb, A.J.: Dextran-Spermine Polycation: An Efficient Non-Viral Vector for In Vivo Gene Transfection, 31st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society(2003.7.19-23.

Glasgow)

Hosseinkhani, H., Azzam, T., Tabata, T., Domb, A.J.: Polymer complexes with DNA for gene therapy. 4th International Symposium on Pharmaceutical Chemistry(2003.9-5-10. Istanbul)

尾関 真, 田畑泰彦: 細胞増殖因子の徐放に与えるゼラチンハイドロゲルの架橋密度の影響. 第32回医用高分子シンポジウム(2002.7.31-8.1. 東京)

尾関 真, 田畑泰彦: 肝細胞増殖因子とその徐放担体材料としてのゼラチンとの相互作用. 第52回高分子討論会(2002.9.24-26. 山口)

尾関 真, 田畑泰彦: 異なる架橋方法で作製したゼラチンハイドロゲルの生体吸収性. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

Kushibiki, T., Yamamoto, M., and Tabata, Y.: Body distribution of PEGylated gelatin micelles after intravenous administration. International symposium on fusion of nano and bio technologies(2003.3.9-10. Tsukuba)

櫛引俊宏, 松本邦夫, 中村敏一, 田畑泰彦: NK4 plasmid DNA の徐放化による腫瘍転移抑制効果の増強. 日本薬剤学会第18年会(2003.4.4-6. 京都)

櫛引俊宏, 松本邦夫, 中村敏一, 田畑泰彦: 徐放化 HGF/NK4 plasmid DNA による肝癌腹膜転移の抑制効果. 第19回日本 DDS 学会(2003.6.19-20. 京都)

Kushibiki, T., Fukunaka, Y., Tomoshige, R., and Tabata, Y.: Controlled release from biodegradable hydrogels enhances *in vivo* expression of plasmid DNA. 31st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society(2003. 7.19-23. Glasgow)

櫛引俊宏, 松岡秀樹, 田畑泰彦: ゼラチンとポリエチレングリコールとからなる分子集合体の作製. 第52回高分子討論会(2003.9.24-26. 山口)

櫛引俊宏, 友重龍治, 田畑泰彦: 生体吸収性ハイドロゲルを用いた plasmid DNA の徐放化とその活性増強. 第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

櫛引俊宏, 藤川智行, 友重龍治, 田畑泰彦: PEG グラフト - カチオン化ゼラチンの構造と遺伝子導入機能. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

井上幸子, 田畑泰彦: 塩基性線維芽細胞増殖因子を用いたヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化. 第2回日本再生医療学会(2003.3.11-12. 神戸)

井上幸子, 田畑泰彦: 種々の基材上での脂肪前駆細胞の増殖と脂肪および骨細胞への分化. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

井上幸子, 安田佳織, 高本智紹, 田畑泰彦: 種々の高分子材料上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化. 第61回日本化学繊維研究所講演会(2003.11.20. 京都)

井上幸子, 田畑泰彦: 塩基性線維芽細胞増殖因子のヒト脂肪前駆細胞の増殖・分化に与える影響. 第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

井上幸子, 田畑泰彦: ヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化に与える基材の影響. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

木村 祐, 平岡陽介, 安田佳織, 高本智紹, 稲本 俊, 田畑泰彦: ポリグリコール酸(PGA)繊維 - コラーゲン複合化スポンジを用いた脂肪組織の再生誘導. 第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

木村 祐, 安田佳織, 高本智紹, 稲本 俊, 田畑泰彦: 異なる分解吸収性をもつ組織工学材料の脂肪組織再生誘導に与える影響. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

- 城潤一郎, 山本雅哉, 青山輝義, Hosseinkhani, H., 小川 修, 松本邦夫, 中村敏一, 田畑泰彦: 金属配位結合を用いた HGF/NK4 プラスミド DNA の肝臓ターゲティングによる癌転移抑制効果. 第 19 回日本 DDS 学会 (2003.6.19-20. 京都)
- 城潤一郎, 山本雅哉, 松本邦夫, 中村敏一, 田畑泰彦: プラスミド DNA の肝臓ターゲティングによる癌転移抑制効果. 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003.12.16-17. 大阪)
- 安田佳織, 高橋佳丈, 田畑泰彦: ヒト脂肪前駆細胞のポリエチレンテレフタレート不織布上での増殖・分化挙動. 第 24 回日本炎症・再生医学会 (2003.11.26-27. 京都)
- 安田佳織, 田畑泰彦: 不織布上での脂肪由来幹細胞の増殖, 分化に与える培養方法の影響. 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003.12.16-17. 大阪)
- 友重龍治, 榑引俊宏, 宮崎 誠, 岩永一範, 森本一洋, 掛見正郎, 田畑泰彦: 異なるカチオン化ゼラチンハイドロゲルからの plasmid DNA の徐放. 日本薬学会第 18 年会 (2003.4.4-6. 京都)
- 友重龍治, 榑引俊宏, 宮崎 誠, 岩永一範, 掛見正郎, 田畑泰彦: Plasmid DNA の徐放化に及ぼすゼラチンハイドロゲルのカチオン化の影響. 第 19 回日本 DDS 学会 (2003.6.19-20. 京都)
- 友重龍治, 榑引俊宏, 掛見正郎, 田畑泰彦: 異なるカチオン化ゼラチンハイドロゲルによる Plasmid DNA の徐放. 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003.12.16-17. 大阪)
- 藤川智行, 榑引俊宏, 平野義明, 田畑泰彦: カチオン化ゼラチンマイクロスフェアからのプラスミド DNA の in vivo 徐放. 第 49 回高分子研究発表会 (2003.7.10. 神戸)
- 藤川智行, 榑引俊宏, 平野義明, 田畑泰彦: カチオン化ゼラチンマイクロスフェアからのプラスミド DNA の in vivo 徐放. 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003.12.16-17. 大阪)
- 兼松明弘, 山本新吾, 尾関 真, 小川 修, 田畑泰彦: 細胞増殖因子徐放化生物材料による膀胱再生. 第 6 回日本組織工学会 (2003.6.12-13. 東京)
- 兼松明弘, 山本新吾, 小川 修, 金井恵理, 田畑泰彦: 膀胱平滑筋細胞からの液生因子は骨髄間葉系幹細胞を平滑筋に分化誘導する. 第 12 回日本小児泌尿器科学会 (2003.7.3-4. 神戸)
- 兼松明弘, 金井恵理, 山本新吾, 金谷 勲, 小川 修, 田畑泰彦: 膀胱平滑筋細胞からの液生因子は骨髄間葉系幹細胞を平滑筋様に分化誘導する. 第 26 回日本炎症再生学会 (2003.11.27-28. 京都)
- 川上 理, 波多野武人, 宮本 享, 山田圭介, 橋本信夫, 田畑泰彦: Fibroblast seeding coil を用いた動脈瘤治療の試み. 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003.12.16-17. 大阪)
- 波多野武人, 宮本 享, 川上 理, 山田圭介, 橋本信夫, 田畑泰彦: 線維芽細胞増殖因子の徐放による脳動脈瘤器質化促進コイルの開発. 第 19 回日本脳神経血管内治療学会総会 (2003.11.17-19. 横浜)
- 小西光長, 田畑泰彦, 刈谷方俊, 草刈孝史, 八木治彦, 鈴木彩子, 松村謙臣, 南部香成子, 高倉賢二, 藤井信吾: 縫合貼付かつ薬物徐放が可能な新規 DDS 製剤 CDDP 含浸 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討. 第 55 回日本産婦人科学会学術講演会 (2003.4.12-15. 福岡)
- 小西光長, 田畑泰彦, 藤井信吾: 生体分解性高分子を用いた抗癌剤内包 DDS (drug delivery system) 製剤の開発. 第 8 回生殖医学フォーラム (2003.5.24-25. 徳島)
- 小西光長, 田畑泰彦, 藤井信吾: 縫合貼付かつ薬物徐放が可能な DDS 製剤 CDDP 含浸 gelatin hydrogel sheet の抗腫瘍効果の検討. 第 19 回日本 DDS 学会 (2003.6.19-20. 京都)
- 小西光長, 田畑泰彦, 刈谷方俊, 八木治彦, 草刈孝史, 門間千佳, 金森崇修, 万代昌紀, 高倉賢二, 藤井信吾: 縫合貼付かつ薬物徐放が可能な DDS 製剤 CDDP 含浸 gelatin hydrogel sheet (CDDP-GS) の抗腫瘍効果の検

- 討. 第34回日本婦人科学会学術集会(2003.7.10-12. 京都)
- 北郷明成, 杉本圭介, 福田あおい, 堀内 薫, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦: 骨再生療法のための二次的血管柄付き移植骨片の作製. 第6回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)
- 北郷明成, 尾関 真, 川上 理, 杉本圭介, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦: PRP(platelet-rich plasma)含浸ゼラチンハイドロゲルによる骨再生促進. 第19回日本 DDS 学会大会(2003.6.19-20. 京都)
- Hokugo, A., Ozeki, M., Kawakami, O., Sugimoto, K., Mushimoto, K., Morita, S., Tabata, Y.: Potentiality of gelatin hydrogel in promoting the bone repairing activity of platelet-rich plasma(PRP). An experimental study in rabbits. American Association of Oral and maxillofacial Surgeons 85th Annual Meeting Scientific Sessions and Exhibitions(2003.9.10-13. Orlando)
- 北郷明成, 杉本圭介, 堀内 薫, 福田あおい, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦: 生体吸収性ハイドロゲルを用いた PRP(platelet-rich plasma)徐放化による骨再生促進. 第37回骨・カルシウム代謝研究会(2003.9.19. 京都)
- 北郷明成, 杉本圭介, 堀内 薫, 福田あおい, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦: Gelatin hydrogel を用いた PRP (platelet-rich plasma)徐放化による骨再生促進. 第48回日本口腔外科学会総会(2003.10.23-24. 富山)
- 北郷明成, 杉本圭介, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦: 骨再建のための二次的血管柄付き移植骨片の作製. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)
- 福田あおい, 杉本圭介, 北郷明成, 堀内 薫, 森田章介, 田畑泰彦: 生体材料と自家組織を用いた顎骨再建に関する実験的研究. 第12回硬組織生物学会総会(2003.9.13. 大阪)
- 平岡陽介, 上田寛樹, 木村 祐, 萬代佳宣, 田畑泰彦: 繊維性成分で力学強化した生体組織工学のためのコラーゲンスポンジの作製. 第2回日本再生医療学会大会(2003.3.11-12. 神戸)
- 平岡陽介, 高本智紹, 上田寛樹, 木村 祐, 田畑泰彦: 力学強度を有するコラーゲンスポンジの in vitro および in vivo における評価. 第6回日本組織工学会大会(2003.6.12-13. 東京)
- 平岡陽介, 山城大泰, 安田佳織, 高本智紹, 木村 祐, 稲本 俊, 田畑泰彦: コラーゲンスポンジと徐放化 bFGF を用いた in situ 脂肪再生の試み. 第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- 伊藤宗成, 柳 靖雄, 藤本 学, 平岡陽介, 片岡 健, 許南 浩, 田畑泰彦, 大河内仁志: 毛髪再構築におけるポリグリコール酸含有コラーゲンスポンジの有用性. 第2回日本再生医療学会大会(2003.3.11-12. 神戸)
- 藤田元規, 佐藤恵美子, 前田初彦, 亀山洋一郎, 木下鞆彦, 川瀬俊夫, 田畑泰彦: 生体吸収性ポリグリコール酸コラーゲンスポンジにおけるラット骨髄間葉系幹細胞の三次元培養について. 神奈川歯科大学高次口腔科学研究年次総会研究報告会(2003.3.8. 横須賀)
- 藤田元規, 佐藤恵美子, 前田初彦, 亀山洋一郎, 木下鞆彦, 川瀬俊夫, 田畑泰彦: ポリグリコール酸コラーゲンスポンジにおけるラット骨髄間葉系幹細胞の三次元培養について. 第57回日本口腔科学会総会(2003.5.8-9. 福岡)
- 藤田元規, 神谷正大, 佐藤恵美子, 前田初彦, 亀山洋一郎, 木下鞆彦, 川瀬俊夫, 田畑泰彦: 骨髄間葉系幹細胞のポリグリコール酸含有コラーゲンスポンジにおける増殖, 分化能. 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 京都)
- 河合勝也, 富士森英之, 野田和男, 鈴木茂彦, 田畑泰彦: 遺伝的糖尿病マウスを用いた褥瘡モデルに対する basic fibroblast growth factor 徐放性人工真皮の効果. 第1回 Osaka Wound Healing 研究会(2003.5.17. 大阪)
- 久末伸一, 加藤隆一, 木山博資, 田畑泰彦, 塚本泰司: 海綿体神経再生とそのメカニズム. 第12回泌尿生殖器における信号物質の局在と役割に関する研究会(2003.11.29. 花巻)

山城大泰, 廣瀬哲朗, 田畑泰彦, 稲本 俊, 山岡義生: 塩基性繊維芽細胞増殖因子を遺伝子導入したヒト脂肪組織由来 stroma 細胞による脂肪再生. 第 103 回日本外科学会総会(2003.6.4-6. 札幌)

Endo, T., Nakagawa, T., Kita, T., Kim, T-S. Iguchi, F., Naito, Y., Tabata, Y., Ito, J.: A novel drug delivery system into inner ear. 3rd Inner Ear pharmacology meeting(2003.9.3-5. Malaga)

Endo, T., Nakagawa, T., Kita, T., Kim, T-S. Iguchi, F., Naito, Y., Tabata, Y., Ito, J.: A novel drug delivery system into inner ear. 40th Inner Ear Biology meeting(2003.9.7-9. Malaga)

Matsuura, M., Okazaki, K., Tabata, Y., Ohana, M., Uchida, K., Nishi, T., Asada, M., Kawasaki, K., Fukui, T., Tamaki, H., Iwano, M., Yoshizawa, H., Ohashi, S., and Chiba, T.: Therapeutic effects of basic fibroblast growth factor in dextran sodium-induced murine colitis. Digestive Disease week 2003(2003.5.17-22. Orland)

松浦 稔, 西尾彰功, 田畑泰彦, 岡崎和一, 仲瀬裕志, 玉置敬之, 吉澤はづき, 井上聡子, 千葉 勉: 炎症性腸疾患に対する Basic FGF 治療の基礎的検討. 潰瘍病態研究会第 12 回フォーラム(2003.8.30. 東京)

Matsuura, M., Nishio, A., Tabata, Y., Nakase, H., Tamaki, H., Ohana, M., Uchida, K., Nishi, T., Iwano, M., Asada, M., Kawasaki, K., Fukui, T., Yoshizawa, H., Ohashi, S., Inoue, S., Kiriya, K., Kawanami, C., Chiba, T., and Okazaki, K.: Therapeutic effects of rectal administration of basic fibroblast growth factor on dextran sulfate sodium-induced murine colitis. The 2nd GRG/AGA symposium(2003.12.12-13. Kyoto)

丸井 晃, 洞井和彦, 岩倉 篤, 榊原 裕, 山本雅哉, 榑引俊宏, 廣瀬圭一, 仁科 健, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)含有ゼラチンハイドロゲルによる他臓器に影響を与えない新しい血管新生療法. 第 2 回再生心臓血管外科治療研究会(2003.5.16. 札幌)

丸井 晃, 洞井和彦, 岩倉 篤, 榊原 裕, 山本雅哉, 榑引俊宏, 廣瀬圭一, 仁科 健, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 他臓器に影響を与えない難治性下肢虚血, 潰瘍, 壊死に対する新しい血管新生療法. 日本医工学治療学会第 19 回学術大会(2003.5.16-18. 札幌)

丸井 晃, 洞井和彦, 山本雅哉, 榑引俊宏, 廣瀬圭一, 仁科 健, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 重症虚血下肢に対する他臓器に影響を与えない新血管新生療法の可能性. 第 103 回日本外科学会総会(2003.6.4-6. 札幌)

丸井 晃, 洞井和彦, 廣瀬圭一, 岩倉 篤, 田畑泰彦, 米田正始: 他臓器に影響を与えない重症虚血下肢に対する新しい血管新生療法. 第 5 回比叡山ワークショップ(2003.7.5. 京都)

丸井 晃, 洞井和彦, 山本雅哉, 榑引俊宏, 廣瀬圭一, 仁科 健, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 他臓器に影響を与えない重症虚血下肢に対する新しい血管新生療法. 第 31 回日本血管外科学会(2003.7.10-11. 金沢)

Marui, A., Tabata, Y., Doi, K., Iwakura, A., Hirose, K., Yamamoto, M., Kushibiki, T., Nishina, T., Ikeda, T., Nishimura, K., Komeda, M.: Novel method to induce therapeutic angiogenesis in critical limb ischemia with use of basic fibroblast growth factor-incorporated gelatin hydrogel. The XIIIth International Symposium on Atherosclerosis (2003.9.28-10.2. Kyoto)

Marui, A., Kanematsu, A., Doi, K., Tabata, Y., Komeda, M.: Synergistic enhancement of therapeutic angiogenesis by dual release of basic fibroblast growth factor and hepatocyte growth factor from biodegradable collagen microsphere. The 75th American Heart Association(2003.11.9-12. Orland)

丸井 晃, 廣瀬圭一, 洞井和彦, 新井善雄, 山本雅哉, 榑引俊宏, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: より一層の安全性, 低侵襲を目的とした塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)徐放化ゼラチンハイドロゲルによ

る新しい血管新生療法．第 65 回日本臨床外科学会(2003.11.13-15. 福岡)

丸井 晃, 洞井和彦, 廣瀬圭一, 新井善雄, 兼松明宏, 山本雅哉, 榑引俊宏, 池田 義, 田畑泰彦, 米田正始: 生体吸収性材料を徐放担体とした血管新生療法．第 4 回心血管再生医学研究会(CVR) (2003.11.29. 大阪)

中島博之, 丸井 晃, 岩倉 篤, 洞井和彦, 廣瀬圭一, 山本雅哉, 榑引俊宏, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 重症虚血肢・心に対する bFGF 徐放製剤による新しい血管新生療法～安全と低侵襲化を目指して．第 41 回日本人工臓器学会(2003.10.30-11.1. 仙台)

金光尚樹, 丹原圭一, 榑原 裕, 坂口 元, 中島博之, 山本雅哉, 尾関 真, 田畑泰彦, 西村和修, 米田正始: 難治性心不全に対する細胞増殖因子を用いた治療戦略 - 徐放化ペプチドとして．第 56 回日本胸部外科学会総会(2003.11.19-21. 東京)

廣瀬圭一, 植山浩二, 丸井 晃, 洞井和彦, 榑原 裕, 山本雅哉, 榑引俊宏, 池田 義, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 安全性と低侵襲を目的とした重症虚血性疾患(心臓, 下肢)に対する新しい血管新生療法．第 44 回日本脈管学会総会(2003.11.6-8. 福岡)

Tambara, K., Sakakibara, Y., Iwai-Kanai, E., Komeda, M., and Tabata, Y.: A therapeutic trial for fibrotic disease based on the release technology of growth factor. 6th International conference and exposition the tissue engineering society international(2003.12.10-13. Orlando)

中野貴由, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦: 生体硬組織・再生硬組織への結晶学的アプローチ．第 25 回骨・カルシウム代謝研究会(2003.2.28. 京都)

中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 生体硬組織・再生硬組織に見られるユニークなアパタイト配向性．日本金属学会 2003 年春期(第 132 回)大会(2003.3.29. 千葉)

中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 生体硬組織・再生硬組織への結晶学的アプローチによる組織・機能評価．中谷財団調査研究委員会(2003.4.16. 大阪)

中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 生体硬組織・再生硬組織への結晶学的アプローチによる組織・機能評価．大阪市立大学医学部整形外科セミナー(2003.5.10. 大阪)

中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦, 山本敏男: 材料科学の立場から見た生体硬組織．軽金属学会(2003.5.16. 姫路)

中野貴由, 土田裕基, 石本卓也, 藤谷 渉, 馬越佑吉, 出口博史, 山本 融, 野口真一, 山本雅哉, 川上 理, 田畑泰彦, 山本敏男: 生体硬組織への結晶学的アプローチ - 微小領域 X 線回折法ならびに Spring-8 放射光施設によって - ．第 5 回 21 世紀を考える境界領域シンポジウム(2003.5.22. 福岡)

中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 生体硬組織・再生硬組織への結晶学的アプローチによる組織・機能評価．第 2 回再生医療シンポジウム(2003.6.16. 大阪)

中野貴由, 土田裕基, 石本卓也, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦: 生体硬組織・再生硬組織の機能・構造に対する結晶工学的アプローチ．第 25 回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 京都)

中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: ハイドロキシアパタイトの配向性と骨代謝の関連．大阪大学医学部整形外科セミナー(2003.12.22. 大阪)

石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 長管骨巨大欠損部の再生過程と生体 Ap 配向性変化．日本金属学会 2003 年春期(第 132 回)大会(2003.3.27-29. 千葉)

石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦, 出口博史: 長管骨欠損部の形状回復過程に対する結晶学的パラメータの変化．日本金属学会 2003 年秋期(第 133 回)大会(2003.10.11-13. 札幌)

土田裕基, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本敏男, 田畑泰彦: 海綿骨の形態とその生体 Ap 配向性．日本金属学会 2003

年春期(第 132 回)大会(2003.3.27-29. 千葉)

土田裕基, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本敏男, 山本雅哉, 田畑泰彦: 海綿骨における BAp 配向性の解明と病理診断への応用. 日本金属学会 2003 年秋期(第 133 回)大会(2003.10.11-13. 札幌)

西田 崇, 久保田 聡, 小島俊司, 窪木拓男, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 滝川正春: 肥大軟骨細胞由来の成長因子 CTGF/Hcs24 によるラット関節軟骨損傷の修復. 第 16 回日本軟骨代謝学会(2003.3.7-8. 岡山)

Nishida, T., Kubota, S., Kojima, S., Kuboki, T., Kushibiki, T., Tabata, Y., and Takigawa, M.: Regeneration of defects in the articular cartilage in rat knee joints by connective tissue growth factor/hypertrophic chondrocyte-specific gene product 24(CTGF/Hcs24). IBMS-JSBMR 2003(2003.6.3-7. Osaka)

Nishida, T., Kubota, S., Kojima, S., Kuboki, T., Kushibiki, T., Tabata, Y., and Takigawa, M.: Regeneration of injured rat articular cartilage by connective tissue growth factor/hypertrophic chondrocyte-specific gene product 24(CTGF/Hcs24/CCN2). 第 76 回日本生化学会(2003.10.15-18. 横浜)

森本一洋, 長尾智誠, 上林弘志, 田内義彦, 関 俊暢, 富田幹雄, 林 正弘, 田畑泰彦: アミノ化ゼラチンによるペプチド性医薬品の粘膜吸収促進効果について. 日本薬学会第 123 年会(2003.3.27-29. 長崎)

Morimoto, K., Kanbayashi, H., Nagao, T., Tauchi, Y., Seki, T., Tabata, Y., Tomita, M., Hayashi, M.: Aminated gelatin as a nasal absorption enhancer for peptide drugs. 31st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society(2003.7.19-23. Glasgow)

上林弘志, 長尾智誠, 田内義彦, 関 俊暢, 田畑泰彦, 富田幹雄, 林 正弘, 森本一洋: ペプチド性医薬品のアミノ化ゼラチンによる粘膜吸収促進効果とその機構(2). 日本薬剤学会第 18 年会(2003.4.4-5. 京都)

上林弘史, 長尾智誠, 丁野純男, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: ペプチド性医薬品のスベルミン化ゼラチンによる粘膜吸収促進効果とその機構に関する研究. 日本薬学会北海道支部第 120 回例会(2003.5.10. 札幌)

上林弘史, 長尾智誠, 丁野純男, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: ペプチド性医薬品のアミノ化ゼラチンによる粘膜吸収促進効果とその機構(3). 第 19 回日本 DDS 学会(2003.6.19-20. 京都)

上林弘史, 丁野純男, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: ペプチド性医薬品のアミノ化ゼラチンによる粘膜吸収促進効果とその機構(3). 第 18 回日本薬物動態学会(2003.10.8-10. 札幌)

田内義彦, 小齋 儀, 丁野純男, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: カチオン性ゼラチンマイクロスフィアを用いたタンパク/ペプチド薬物の放出制御製剤の設計. 日本薬剤学会第 18 年会(2003.4.4-5. 京都)

丁野純男, 小齋 儀, 田内義彦, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: エチレンジアミン化ゼラチンマイクロスフィアによるアニオン性ペプチドの放出制御機構の解明. 第 19 回日本 DDS 学会(2003.6.19-20. 京都)

Kojima, K., Ignatz, R., Kushibiki, T., Tabata, Y., Bonassar, L.J., Vacanti, C.A.: Tissue engineered trachea using sheep bone marrow-derived from mesenchymal stem cells with TGF- β 2 released from biodegradable microspheres. 83rd Annual Meeting. American Association for Thoracic Surgery(2003.5.4-7. Boston)

Yamamoto, Y., Okamoto, T., Gotoh, M., Tabata, Y., Yokomise, H.: The BMP-2 slow releasing gelatin with periosteum coverage induces the bone formation in canine tracheal cartilage gap, and the preliminary report of the utilization of this material into artificial trachea. 16th Aachen Colloquium on Biomaterials.(2003.2.20-21. Aachen)

山本恭通, 岡本 卓, 後藤正司, 榎屋大輝, 中島 尊, 劉 大革, 亀山耕太郎, 石川真也, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: PLA cube および徐放性 β -FGF による胸腔形成術の実験的検討. 第 56 回日本胸部外科学会総会(2003.11.19-21. 東京)

横見瀬裕保, 岡本 卓, 後藤正司, 山本恭通, 田畑泰彦: 臍胸の新しい治療法の開発. 第 78 回日本結核病学会.
(2003.4.24-25. 岡山)

岡本 卓, 山本恭通, 後藤正司, 劉 大革, 亀山耕太郎, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 中村達雄, 清水慶彦, 田畑泰彦: BMP 徐放ゼラチンスポンジにより誘導した気管軟骨再生. 第 10 回 rhBMP-2 研究会(2003.7.19. 東京)
後藤正司, 岡本 卓, 山本恭通, 中島 尊, 榊屋大輝, 劉 大革, 亀山耕太郎, 石川真也, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 榑引俊宏, 田畑泰彦: イヌ肺気腫モデルにおける bFGF 徐放ゼラチンマイクロスフェアによる肺組織再生.
第 56 回日本胸部外科学会総会(2003.11.19-21. 東京)

高松聖仁, 金城養典, 今井祐記, 榑本 誠, 高岡邦夫, 越宗 勝, 中塚洋直, 田畑泰彦, 山本雅哉, 筏 義人: 末梢神経再生用 bFGF 処理生体吸収性 Polymer tube は bFGF を徐放する. 第 30 回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2003.11.13-14. 岡山)

高松聖仁, 金城養典, 今井祐記, 榑本 誠, 高岡邦夫, 越宗 勝, 中塚洋直, 田畑泰彦, 山本雅哉, 筏 義人: 生体吸収性ポリマーチューブによる bFGF-Drug Delivery System の末梢神経再生への応用. 第 22 回運動器移植・再生医学研究会(2003.10.25. 豊中)

高松聖仁, 金城養典, 今井祐記, 榑本 誠, 高岡邦夫, 越宗 勝, 中塚洋直, 田畑泰彦, 山本雅哉, 筏 義人: 生体吸収性バイオマテリアルチューブによる bFGF ドラッグデリバリーシステムの末梢神経欠損部の架橋. 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

文元裕道, 田中嘉雄, 成耆 徹, 上田晃一, 尾関 真, 榑引俊宏, 田畑泰彦: 既存の動静脈血管束を用いた Prefabricated Engineered Skin Flap についての実験的研究. 第12回日本形成外科学会基礎学術集会(2003.10.9-10. 東京)

諸富公昭, 磯貝典孝, 上石 弘, 中谷達也, 宗像 浩, 榑引俊宏, 田畑泰彦: 細胞増殖因子を用いた軟骨組織の Tissue engineering 徐放化 bFGF を用いた検討. 日本形成外科学会基礎学術集会(2003.10.9-10. 東京)

Holland, T. A., Tabata, Y., and Mikos, A. G.: Controlled Release of TGF- β 1 from Gelatin Microparticles Encapsulated in Oligo(Poly(Ethylene Glycol)Fumarate)Hydrogels. 31st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society(2003. 7.19-23. Glasgow)

Holland, T.A., Tessmar, J.K., Tabata, Y., and Mikos, A.G.: Sustained Release of Transforming Growth Factor- β 1 from Novel Oligo(Poly(Ethylene Glycol)Fumarate)Hydrogels Encapsulating Gelatin Microparticles in Conditions that Model the Cartilage Wound Healing Environment. AIChE 2003 Annual Meeting(2003.11.16-21. San Francisco)

Thakor, DK., Tabata, Y., Nishimura, I., Spigelman, I.: Noninvasive gene transfer to the peripheral nervous system. Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting(2003.11.8-12. New Orleans)

2) 講演・シンポジウム

田畑泰彦: 再生医療の最新動向と先端治療技術. 新社会システム総合研究所 - バイオ&ゲノムビジネス戦略特別セミナー -(2003.2.7. 東京)

田畑泰彦: 組織再生と DDS/scaffolding 技術. 北里大学薬学部公開シンポジウム 2003 - 再生医療の進歩と創薬 - (2003.2.14. 東京)

田畑泰彦: 再生医療. 大阪商工会議所バイオビジネススクール講義(2003.2.22. 大阪)

田畑泰彦: 再生医療を支える医工学技術 - 生体組織工学, Tissue Engineering -. バイオフォーラム 2003 大阪

(2003.2.23. 大阪)

田畑泰彦：scaffold と DDS とを用いた再生医療の実際，札幌医科大学再生医療セミナー(2003.2.24. 札幌)

Tabata, Y.: Significance of Release Technology of Growth Factor in Tissue Engineering, 第 16 回日本軟骨代謝学会
(2003.3.7-8. 岡山)

田畑泰彦：生体吸収性材料と DDS を基盤とした再生医療の実際，京都府立医科大学セミナー(2003.3.12. 京都)

田畑泰彦：生体組織工学をベースとした再生医療，第 91 回日本泌尿器科学会総会(2003.4.2-5. 徳島)

田畑泰彦：生体組織工学を基盤とした再生医療，第 14 回長崎腎臓フォーラム(2003.4.15. 長崎)

田畑泰彦：再生医療の最先端 - 生体組織工学と再生医療 - ，東洋紡全国代理店会議講演会(2003.4.18. 大阪)

田畑泰彦：再生医療における生体組織工学の必要性，第 1 回 Osaka World Healing 研究会(2003.5.17. 大阪)

田畑泰彦：生体組織工学を基礎とした骨再生，第 76 回日本整形外科学会学術集会(2003.5.22-25. 金沢)

田畑泰彦：生体組織工学と再生医療，東京大学 Tissue Engineering 部開所記念講演会(2003.5.23. 東京)

田畑泰彦：皮膚疾患と再生医療，第 102 回日本皮膚科学会総会(2003.5.23-25. 東京)

田畑泰彦：高分子材料の再生医療における重要性，第 2 回高分子材料研究会(2003.6.6. 京都)

田畑泰彦：再生医療の現状と泌尿器科領域への展開，第 2 回 UROLOGY SEMINAR for JAPAN-21(2003.6.13. 大阪)

田畑泰彦：再生医療入門，第 1 回県薬・病薬共催学術講演会(2003.6.14. 神戸)

田畑泰彦：生体組織工学をベースとした頭蓋骨と顎骨の再生誘導治療，日本先天異常学会学術集会(2003.7.2-4.
豊中)

田畑泰彦：再生医療の現状と循環器領域への応用，第 26 回 Osaka Post Graduate Conference(2003.7.12. 大阪)

田畑泰彦：生体組織工学を用いた再生医療の実際と骨再生，神戸大学整形外科セミナー(2003.8.7. 神戸)

Tabata, Y.: Drug Delivery for Tissue Engineering. Advances in Tissue Engineering 2003 11th Annual Short Course
(2003.8.13-16. Texas)

田畑泰彦：再生医療の実現に必要な基板材料技術，東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所特別研究会(2003.8.20. 敦
賀)

田畑泰彦：再生医学から再生医療へ，第 3 回コンボン研究所グランドセミナー(2003.9.2. 名古屋)

田畑泰彦：再生医療発展のための基盤技術と医療機器開発の重要性，第 3 回次世代医療システム産業化フォーラム
(2003.9.9. 大阪)

田畑泰彦：医療(治療・予防・診断)における DDS の役割 - フラレンを用いた癌治療 - ，RD 懇話会 9 月度例会
(2003.9.10. 大阪)

田畑泰彦：生体組織工学をベースとした再生医療の実際，第 12 回硬組織生物学会学術大会総会(2003.9.13. 大阪)

田畑泰彦：再生医療における生体組織工学の必要性，神埼郡医師会講演会(2003.9.17. 神埼郡)

田畑泰彦：生体材料，生体組織工学を基盤とした再生医療の最前線，第 42 回日本歯科技工学会学術講演会
(2003.9.19-20. 盛岡)

田畑泰彦：生体吸収性高分子材料を用いた再生医療，日本蚕毛株式会社講演会(2003.10.1. 京都)

田畑泰彦：DDS と超音波とを組み合わせた薬物治療，第 2 回超音波薬物遺伝子導入研究会(2003.10.3. 富山)

田畑泰彦：Medical and biological applications of gelatin and fullerene nanomedicines, 第 2 回 NSF - 文部科学省合同
シンポジウム(2003.10.9-11. 横浜)

Tabata, Y.: Delivery technology of growth factor indispensable to regenerative medicine, 第 76 回日本生化学会大会
(2003.10.15-18. 横浜)

田畑泰彦：生体組織工学と再生医学．北九州歯科大学講演会(2003.10.16. 小倉)

田畑泰彦：DDS 基材としてのゼラチンの再生医療への応用．第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.16-17. 北九州)

田畑泰彦：DDS と scaffold 技術を用いた組織再生誘導と再生医療．第 22 回日本運動器移植・再生医学研究会(2003.10.25. 豊中)

田畑泰彦：DDS を利用した再生医療．第 41 回日本人工臓器学会大会(2003.10.30-11.1. 仙台)

田畑泰彦：ここまで進んだ再生医療の実際．第 57 回日本臨床眼科学会(2003.10.31-11.3. 名古屋)

田畑泰彦：脈管疾患における再生医療・遺伝子治療のための基礎技術．第 44 回日本脈管学会総会(2003.11.6-8. 福岡)

田畑泰彦：再生医療の最新の話題．腎再生医療学術講演会(2003.11.6. 長崎)

田畑泰彦：再生医療における基礎技術とその実用化．旭メディカル株式会社講演会(2003.11.7. 大分)

田畑泰彦：再生医療の実際とそれを支える基盤生体組織工学技術．三菱レイヨン株式会社講演会(2003.11.10. 大竹)

田畑泰彦：工学・医学・薬学を融合した医療分野への応用．日本化薬株式会社講演会(2003.11.14. 東京)

田畑泰彦：細胞増殖因子を利用した生体組織の再生誘導治療．第 2 回系球体カンファレンス(2003.11.22. 羽島郡)

Tabata, Y.: Vital Importance of Drug Delivery System in Tissue Engineering. International Conference on Materials for Advanced Technologies(2003.12.7-12. Singapore)

田畑泰彦：塩基性線維芽細胞増殖因子と再生医療．第 33 回日本創傷治癒学会(2003.12.9. 千葉)

山本雅哉, 田畑泰彦：ドラッグデリバリーシステムを用いた骨組織の再生．第 25 回東日本整形災害外科学会(2003.9.26-27. 東京)

Yamamoto, M., and Tabata, Y.: Growth factor delivery system for surgical and physical tissue engineering. 7th US-Japan Symposium on drug delivery systems(2003.12.14-19. Hawaii)

組織修復材料学分野

Department of Reporative Materials

分野主任 教授 岩田 博夫

Prof. Hiroo Iwata

【研究概要】

現代医療を支える学問的基盤は基礎医学や生物学だけではない．これまでも多くの工学研究の成果が医療技術の発展に多大な貢献をなしてきた．このような境界領域における工学研究の役割は，今後，ますます重要になるものと予想される．当分野では，マテリアルエンジニアリングやバイオエンジニアリングの研究を通じて先端医療の発展に寄与することを目指し，以下の研究課題に取り組んでいる．

1. 再生医学

病気やケガで大きく損なわれた体の機能・構造を再び蘇らせる治療法を「再生医療」と呼ぶ。この夢のような治療法が、医学と工学の連携によって今まさに開花しようとしている。当分野では、再生医療に欠かせない「移植細胞」や「人工細胞外マトリックス」をいかにして創り出し、それをもとに複雑な組織や臓器を再生させるための方策について研究を行っている。

- (1) 幹細胞工学：幹細胞(ES細胞、組織幹細胞、臍帯血由来幹細胞)を各種の機能細胞(インスリン産生細胞、ドーパミン作動性ニューロンなど)へ分化誘導したり、それらを増幅・分離するための細胞培養技術ならびにバイオアクティブ高分子基材の開発。
- (2) 3次元組織構築：人工材料を利用して3次元構造をもつ組織を創り出すための戦略に関する研究。

2. バイオ人工臓器

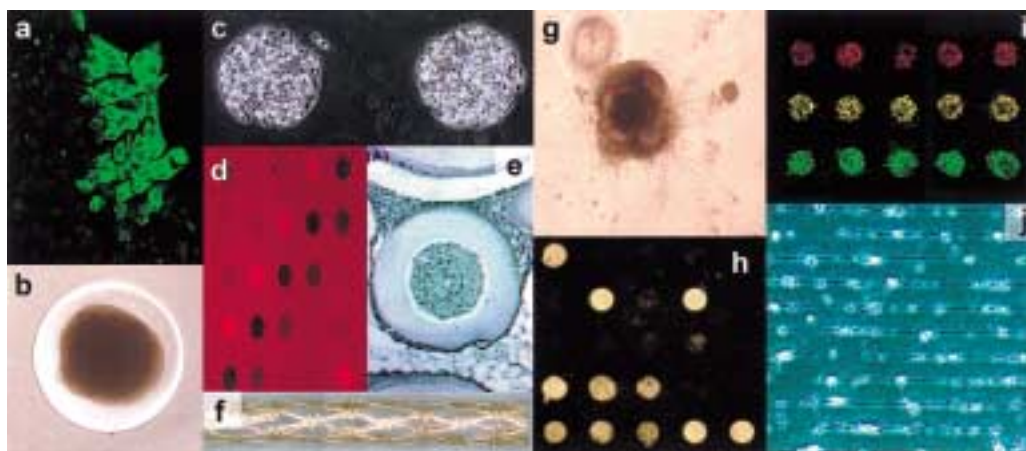
肝臓や膵臓は、体の代謝機能を担う重要な臓器である。これらが重篤な疾患に陥ると、生命の維持すらうまく行えないことになる。当分野では、代謝系臓器の代替デバイスとして、生きた細胞と人工材料を組み合わせたバイオ人工臓器を開発し、臨床応用に向けた研究を行っている。

- (1) バイオ人工肝臓：高分子中空系型モジュールの内部に肝細胞を高密度に封入したバイオ人工肝臓の開発。患者の血液を体外循環によって灌流し、代謝産物の解毒や必須タンパク質の供給を行う。
- (2) バイオ人工膵臓：インスリン産生細胞を免疫隔離膜製のマイクロカプセル内に封入したバイオ人工膵臓の開発。患者の体内に埋め込み、インスリンを産生させることで血液中の糖濃度を調節する。
- (3) 免疫隔離膜：移植細胞をレシピエントの液性ならびに細胞性免疫から隔離するための半透性高分子膜の分子設計。

3. 低侵襲治療デバイス

外科手術による患者への侵襲をできる限り軽減しようとする努力がなされている。われわれは、これを可能にする医療用デバイスの開発を材料工学の立場から追求している。ここでは、脳外科分野の研究者や医療機器メーカーの技術者との協力体制で研究に取り組み、早期の臨床応用を目指す。

- (1) 血管内手術用具：脳や心臓の微細な血管内部に体の遠隔部からアクセスし、血管の狭窄や動脈瘤を治療するための血管内治療用具の開発(高分子製カテーテル、金属製ステント、血管塞栓用高分子)。



(a)ES細胞から分化誘導されたインスリン産生細胞。(b)免疫隔離膜に封入された胚様体。(c)細胞のマイクロパターン培養。(d)表面プラズモン共鳴イメージングによるマイクロアレイのキャラクタリゼーション。(e)ランゲルハンス島をマイクロカプセルに封入したバイオ人工膵臓。(f)脳血管用ステント。(g)高分子基材表面で神経に分化誘導されたES細胞塊。(h)抗体アレイを利用した細胞表面マーカータイピング。(i)トランスフェクショナルアレイ上で遺伝子導入されたHEK293細胞のマイクロスポット。(j)ストライプパターンに沿って突起を伸ばす神経細胞。

- (2) 遺伝子治療用デバイス：血管内壁の組織形成を局所的に制御するための *in situ* 遺伝子治療デバイスの設計。
- (3) 中枢神経修復材料：損傷した脊椎を固定・修復するための椎間板固定器具の開発。

4. 細胞チップ

多種類のタンパク質、遺伝子、細胞について、それらの機能を迅速に分析するための細胞チップの開発を行っている。ここでは、材料表面のマイクロパターン化技術、細胞のマイクロマニピュレーション技術、細胞機能の高速分析システムとデータ解析手法などが不可欠である。細胞マイクロアレイはポストゲノム時代の重要な研究ツールになるものと予想する。

- (1) 機能性タンパク質スクリーニング：多種類のタンパク質(細胞増殖因子、神経成長因子など)を配列固定したマイクロアレイの設計と細胞分化を指標にした機能分子のスクリーニング。
- (2) ハイスループット遺伝子機能解析：培養細胞の微少な部位に限定して核酸(プラスミド DNA, siRNA)を導入するためのトランスフェクショナルアレイの設計と遺伝子機能解析への展開。
- (3) 表面マーカータイピング：膜抗原に対する多種類の抗体を搭載したマイクロアレイの設計と細胞表面マーカーの迅速タイピング。
- (4) 細胞間相互作用解析：多種類の細胞をアレイ化した細胞チップの作成と細胞間相互作用のハイスループット分析。

5. 表面化学

上で述べた各種のデバイスはいずれも、細胞や組織のような生きた生体システムと体内あるいは体外で接触し、そのインターフェースで起こる様々な分子間相互作用を通して目的とする機能を発揮する。そのため、材料表面に接した生体システムの振る舞いを詳細に把握したり、目的に応じて精密に制御することが必要になる。当分野では、様々な物理化学的、生物学的手法を用いてこれらの課題に取り組んでいる。

- (1) 材料 - 生体分子間相互作用：表面プラズモン共鳴現象を利用した材料表面 - 生体分子間相互作用(タンパク質吸着、補体活性化など)のリアルタイム観測。
- (2) イメージング表面プラズモン共鳴装置：マイクロアレイを併用した材料表面 - 生体分子間相互作用リアルタイム・パラレル分析。
- (3) エバネッセント場蛍光顕微鏡：細胞接着過程における材料表面 - 細胞間相互作用の高感度リアルタイム分析。
- (4) 環境応答性表面：感温性高分子からなるゲル薄膜や高分子電解質複合体膜を利用した材料表面の高機能化。

Modern medical treatments have been developed from not only modern pharmaceutical sciences and molecular biology, but also biomedical engineering. The role of researchers whose background is engineering will be to become more important in such boundary research area in future. We aim to train students from the graduate school of engineering for the biomedical engineer through the researches. Research subjects of our department are listed below:

Cell culture substrates for regenerative medicine

Cells and extracellular matrices are important raw materials for regenerative medicine. In recent years, many research groups have devoted enormous efforts to establish *in vitro* culture conditions in which stem cells, such as ES cells and tissue stem cells, differentiate into various functional cells. Those cells are expected to be very useful for treatment of various diseases. Many kinds of stromal cells have been used to differentiate stem cells to functional cells.

However, most of stromal cells preferentially used are derived from mice. Some authorities who are in charge of regulatory issue have pointed out the difficulty to rule out the possibility that retrovirus incorporated in mouse gene will be activated and transferred to stem cells and functional cells derived from stem cells. One of our research activities is focused on the development of stromal cell free culture systems used for the induction of ES cells to various functional cells. ES cells cultured on the substrate, onto which bioactive molecules isolated from stromal cells, are immobilized effectively differentiated to dopaminergic neurons.

Conventional cell culture substrates are not always suitable for cells used for regenerative medicine. Neurons differentiated from ES cells in vitro are very difficult to be collected from a cell culture flask without deterioration of cell functions, because long axons from neurons are easily damaged during detachment of neural cells from the cell culture substrate. Cell sheets but not single cells are needed in some instance, such as regeneration of a skin and a mucous membrane. We have been examining a film of cellulose derivatives for a cell culture substrate. Cells cultured on it are removed by cellulose-degrading enzyme, cellulase, without damaging cells on the substrate.

Bioartificial organs

Bioartificial Liver : Liver is a unique organ that has a strong potential for regeneration. Even after the liver is severely damaged, its regeneration can be expected if the patient is appropriately supported by a medical device for a certain time. A bioartificial liver that contains a large number of living hepatocytes is the most promising device for liver support. We prepare a bioartificial liver by inoculating ten billion porcine hepatocytes into a hollow fiber module. Hepatocytes in hollow fibers formed the firm aggregate of a noodle shape after one day culture. The metabolic functions of the bioartificial liver were evaluated by loading several chemicals. Our bioartificial liver maintained about 1/20 of the metabolic function of the normal adult human liver for more than 10 days.

Bioartificial pancreas : Islets of Langerhans have been transplanted to treat insulin-dependent diabetes patients. Adult pancreatic β cells are known to have a poor growth capacity. Islets containing β cells from cadaver donors or animals should be employed. In bioartificial pancreas, islets are encapsulated into a semi-permeable membrane and then implanted into the diabetic patients to protect them from immune rejection. The semi-permeable membrane permits permeation of oxygen and nutrient which are necessary for islet survival, but prohibits contact of islet cells with components of the host immune system. We encapsulated islets into agarose-based microbeads and induced normalization of blood glucose levels of diabetic recipient mice by implanting 1000 microencapsulated hamster islets into the peritoneal cavity.

Medical devices for least invasive surgery :

Endovascular surgery is recognized as one of the strategies for the treatment of various neuro-vascular diseases such as cerebral or spinal arteriovenous malformations, dural arteriovenous fistulas and cerebral aneurysms. In this method, a microcatheter is advanced into or close to a lesion and then the lesion is treated by various methods, such as embolization and stenting. It is not so invasive and thus is accepted as an attractive therapy making up conventional surgical techniques. For more than 20 years we have been working on the development of new devices, such as catheters with higher performance, effective embolic materials, and smart stents.

Cell chips for high-throughput screening :

Transfectional array : Functional characterization of human genes may be one of the most challengeable tasks in the post-genome era. Due to a huge number of novel genes discovered in genomics, high-throughput methods are required to express or silence in parallel thousands of genes in living cells. The objective of our study is to fabricate transfectional arrays through micropatterning of self-assembled monolayers on a gold substrate and the subsequent site-specific spotting of different expression vectors or short interfering RNAs.

Antibody array : Recent progress in stem cell research provides us with promising options of cell sources for use in tissue engineering. However, insufficient knowledge about specific surface antigens expressed on most of stem cells limits their application in regenerative medicine. To solve this problem, we developed a high-throughput analytical method for typing multiple membrane proteins. Our method is based on solid-phase cytometry using an antibody microarray prepared on a micropatterned alkanethiol monolayer.

The highly-integrated cell arrays prepared by patterning self-assembled monolayers will provide promising platforms for the cell-based high-throughput functional analysis, where live cells are used to screen massively thousands of drugs, proteins, and genes in parallel.

Surface chemistry for biomedical materials :

Protein adsorption and complement activation are involved in the initial reactions against man-made materials with living bodies. It is necessary to elucidate these mechanism in relation to the surface properties so as to rationally design biocompatible surfaces of synthetic implants. Most of information on protein adsorption and complement activation by artificial polymeric materials has been accumulated from studies with polymeric materials. However, polymer surfaces could not be assumed rigid and immobile at equilibrium. The polymer molecules in the vicinity of the surface or interface would exhibit motion and relaxation in response to the different interfacial environment. And thus it is difficult to prepare model surfaces using polymeric materials for studies of the complement activation. Self-assembled monolayers of alkanethiols formed on a gold thin film give well-defined model surfaces for studies on interfacial phenomena and intermolecular interactions. The surface plasmon resonance technique can be applied to analyze the interfacial phenomena under water. We have been studying protein adsorption, complement activation, and cell adhesion on well-defined surfaces made of self-assembled monolayers using the surface plasmon resonance technique.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Ueda, Y., Iwata H., Peak, H-J., Ko, I-K. Shimooka Y., Katsura, N., Ikai, I., Yamaoka, Y., Ikada, Y. : Bioartificial liver with whole blood perfusion, *ASAIO J.* **49** : 401-406(2003)

Hirata, I., Hioki, Y., Toda, M., Kitazawa, T., Murakami, Y., Kitano E., Kitamura, H., Ikada, Y., Iwata H. : Deposition of complement protein C3b on mixed self-assembled monolayers carrying surface hydroxyl and methyl groups studied by surface plasmon resonance. *J. Biomed Mater. Res.*, **66A** : 669-676(2003)

- Murakami, Y., Iwata, H., Kitano, E., Kitamura, H., Ikada, Y.: Dextran sulfate as a material for the preparation of a membrane for immunoisolation, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **14**: 875-885(2003)
- Murakami, Y., Kitano, E., Kitamura, H., Iwata, H.: Effect of adsorbent of Ripsorber™, a cellulose microparticle with immobilized dextran sulfate, on the serum complement system. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **14**: 1255-1267 (2003)
- Ying L., Kang E.T., Neo K.G., Kato K., Iwata H.: Novel poly(N-isopropylacrylamide)graft-poly(vinylidene fluoride) copolymers for temperature-sensitive modification membranes. *Macromol. Mater. Eng.* **288**: 11-16(2003)

2) 総説

- 岩田博夫：再生医療を支えるテクノロジー(特集 再生医療の現状と将来展望)日本医師会雑誌, 129(3), 313-317 (2003)
- 岩田博夫：再生医学の現状と将来展望, BME, 17(2), 37-40(2003)
- Kato K., Uchida E., Kang E.-T., Uyama Y., Ikada Y.: Polymer surface with graft chains. *Prog. Polym. Sci.* **28**: 209-259 (2003)
- 加藤功一, 高 寅甲, 有馬祐介, 山内文生, 戸田満秋, 吉迫 智, 岩田博夫：パターン化自己組織化単分子膜を利用した細胞チップ. 生物工学会誌 81(11): 473-477(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 岩田博夫：バイオ人工臓器 - 細胞源と免疫隔離膜 -, 日本医工学治療学会 第19回学術大会(2003.5.16-19. 札幌)
- 加藤功一, 高寅甲, 戸田満秋, 岩田博夫：抗体アレイを用いた細胞膜抗原プロファイリング, 繊維学会・第5回生命工学材料とバイオテクノロジーに関するシンポジウム(2003.6.13. 京都)
- 村上能庸, 北野悦子, 北村 肇, 岩田博夫：ポリアニオングラフト表面と補体系との相互作用, 第25回バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)
- Ko I.K., Kato K., Iwata H.: Antibody microarray for parallel analysis of neural stem cell surface markers expressed during differentiation. 2003 Japan-Taiwan Symposium on Stem Cell and Tissue Engineering(2003. 3. 8 Kyoto).
- 高 寅甲, 加藤功一, 岩田博夫：自己組織化膜を用いた抗体アレイの作製とその神経幹細胞膜抗原の分析への応用, 第52回高分子討論会(2003.9.24-26. 山口)
- 高 寅甲, 加藤功一, 岩田博夫：抗体アレイ型細胞チップを用いた幹細胞表面マーカー同定の試み, 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)
- 有馬祐介, 平田伊佐雄, 加藤功一, 岩田博夫：異なる官能基を配列したマイクロアレイ上での補体活性化, 第52回高分子学会年次大会(2003.5.28-30. 名古屋)
- 有馬祐介, 平田伊佐雄, 加藤功一, 岩田博夫：表面プラズモン共鳴イメージング装置を利用した材料モデル表面に対する補体タンパク質吸着の解析, 平成15年度繊維学会年次大会(2003.6. 11-13. 京都)
- 有馬祐介, 加藤功一, 岩田博夫：エバネッセント場蛍光顕微鏡による細胞接着過程の観察, 第25回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

山添泰宗, 村上能庸, 岩田博夫: ES 細胞から神経細胞への分化誘導用基材の作製, 第 2 回日本再生医療学会大会
(2003.3.11. 神戸)

山内文生, 吉迫智, 加藤功一, 岩田博夫: 細胞への核酸導入用マイクロアレイの作製, 第 52 回高分子討論会
(2003.9.24-26. 山口)

山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: トランスフェクショナルアレイの開発, 第 24 回日本炎症・再生医学会
(2003.11.26-27. 京都)

戸田満秋, 北澤隆行, 平田伊佐雄, 平野義明, 岩田博夫: アミノ基を有する表面と補体タンパク質との相互作用:
表面プラズモン共鳴による解析・第 25 回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

嶋田英輝, 福岡英哉, 伊比井崇向, 佐藤秀樹, 岩田博夫: マウス ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導:
第 41 回人工臓器学会(2003.10.30-11.1. 仙台)

伊比井崇向, 嶋田英輝, 福岡英哉, 佐藤秀樹, 岩田博夫: マウス ES 細胞からインスリン分泌性細胞への分化誘導
法の比較 - キナーゼ阻害剤の効果を中心に -, 第 25 回日本バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17.
大阪)

吉迫 智, 山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: 細胞へのオリゴヌクレオチド導入用マイクロアレイの試作, 第 49 回
高分子研究発表会(2003.7.10. 神戸)

2) 講演・シンポジウム

岩田博夫: 細胞の 2-D ディスプレイ - Cellomics へ向けて -, 日本バイオマテリアル学会特別シンポジウム
(2003.1.30. 鹿児島)

岩田博夫: 組織工学と幹細胞研究から再生医療へ, 千里ライフサイエンスシンポジウム(2003.2.7. 大阪)

岩田博夫: 寒天を用いた再生医療, 第 3 回日本バイオマテリアル学会シンポジウム(2003. 9.20. 札幌)

H. Iwata, H. Shimada, T. Ibii, H. Sato, and H. Yamazoe: Derivation of Hormone Releasing Cells from Mouse ES Cells
for Tissue Engineering, 2nd Japanese-Swiss Workshop on Biomaterials, (2003.11.5-7. Tsukuba)

岩田博夫: ティッシュエンジニアリング - 幹細胞生物学から再生医療へ向けて -, 平成 15 年度第 3 回先端医用技
術交流研究会(2003.11.10. 広島)

岩田博夫, 山内文生, 加藤功一: 遺伝子導入マイクロアレイ, 第 61 回日本化学繊維研究所講演会(2003.11.20. 京
都)

岩田博夫: 組織工学の研究動向と将来, バイオ・先端医療講座(2003.12.11. 東京)

加藤功一: パターン化自己組織化単分子膜の細胞チップへの応用, 第 3 回日本バイオマテリアル学会シンポジウム
(2003.9.20. 札幌)

山内文生, 小屋松祐一, 加藤功一, 岩田博夫: マイクロパターン化表面への遺伝子の固定化と細胞へのトランス
フェクション, 第 5 回生命工学材料とバイオテクノロジーに関するシンポジウム(2003.6.13. 京都)

山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: 遺伝子マイクロアレイの作製と細胞への遺伝子導入, 第 3 回日本バイオマテリア
ル学会シンポジウム(2003.9.20. 札幌)

山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: トランスフェクショナルアレイの開発, 第 1 回 積水化学 自然に学ぶ物づくり
フォーラム(2003.10.16. 京都)

再生統御学研究部門

発生分化研究分野

Department of Development and Differentiation

分野主任 中辻 憲夫

Prof. Norio Nakatsuji

【研究概要】

(1) マウス生殖細胞の発生分化機構に関する研究

哺乳類の個体発生と世代間の連続は生殖細胞と多能性幹細胞の繰り返しを基盤として成立しており、これら生殖系列細胞に内在する分子システムは各種体細胞系列が分岐する際の基底状態であると考えられる。当グループではマウス生殖細胞を対象にその発生分化制御機構の解明に取り組んでいるが、現在は生殖細胞細胞質内に観察される chromatoid body/nuage 構造(生殖顆粒)に焦点を絞って、その構成因子の同定や機能解析を行っている。これまでに tudor ドメインの繰り返し構造を持つ複数のタンパク質が共に chromatoid body/nuage に特異的に局在する事を示したが、このうち tudor repeat 1 が mRNA スプライシングに関与する snRNPs と複合体を形成する事、同遺伝子の欠損マウス個体が雄生殖細胞の成熟過程で分化異常を示す事を明らかにした。雄生殖細胞分化の各段階毎に外来遺伝子を導入するシステムを作出したので、同手法を用いて chromatoid body/nuage 構成因子の機能解析を進めると共に、生殖細胞の分化制御を解析する為の新たな実験系の開発に取り組んでいる。

(2) 神経細胞の発生・分化を制御する分子機構

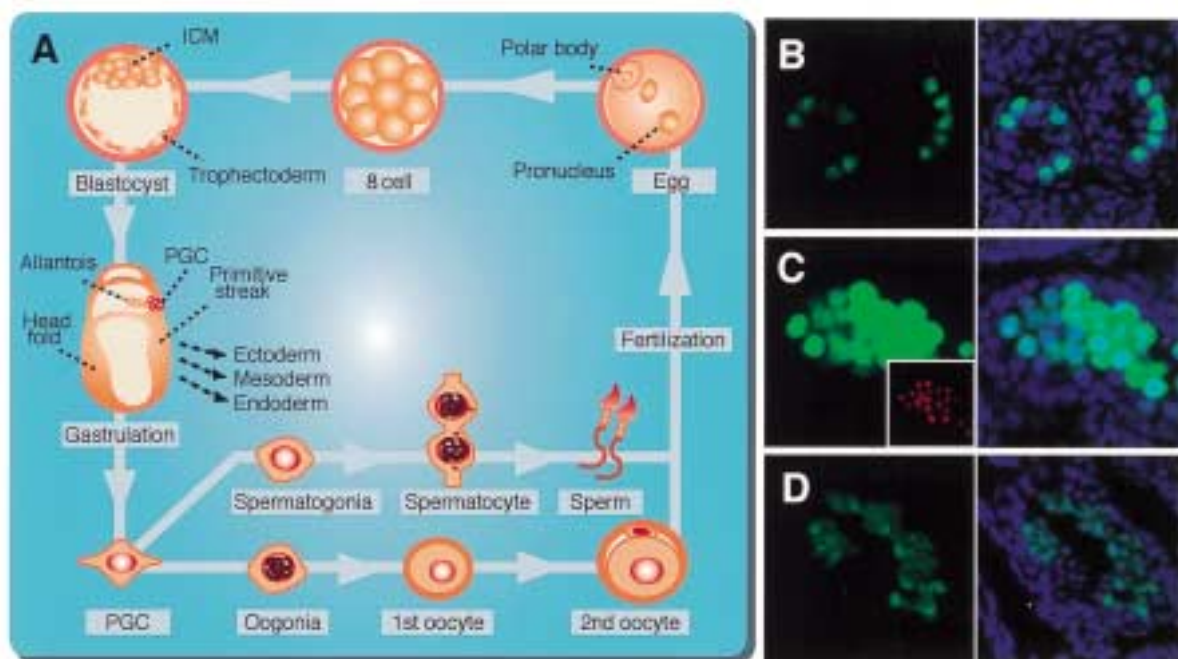
哺乳類の神経系には多種多様な神経細胞が存在し、高次脳機能を支えている。個々の神経細胞の各々に特徴的な性質(neuronal identity)の決定に関わる遺伝子の同定と機能解析を進めている。また、in vivo electroporation 法を用い、マウス胎仔神経系の種々の部位に高効率で遺伝子導入する実験系を開発し、マウス神経系での遺伝子機能を解析している。転写制御機構をトランスジェニックマウスの手法で解析し、Bar 型ホメオボックス遺伝子 *MBH1* は、E-box を介してヘリックス・ループ・ヘリックス型転写因子の Math1 で制御されることを示した。さらに、*MBH1* は脊髄交連神経細胞で特異的に発現し、交連神経細胞の運命決定に必須であることを明らかにした。

(3) 体細胞核ゲノム再プログラム化の分子機構

高等動物体の構成細胞は体細胞と生殖細胞に大別される。生殖細胞は次世代への遺伝情報の伝達を担う細胞であるのに対し、体細胞はその世代を支えるために特殊化した細胞である。ゲノム再プログラム化とは、すでに運命づけられた体細胞のエピジェネティクスを変化させ、その記憶を未分化細胞様に書き換える事により多能性を獲得する現象である。体細胞核移植クローン動物が成功例として知られるが、我々は世界に先駆け体細胞と胚性幹(ES; Embryonic Stem)細胞との細胞融合により体細胞核が再プログラム化され多能性を獲得することを発見した。体細胞から未分化細胞を容易に作製できれば、分化誘導により拒絶反応のない自己分化細胞を作り出す事が可能になり、再生医療の応用に貢献することは間違いない。

融合細胞中で体細胞ゲノムと ES 細胞ゲノムを区別する目的で、マウス亜種間融合細胞を作製した。この融合細胞由来の分化細胞では再プログラム化体細胞ゲノムから組織特異的な遺伝子発現が確認され、その分化方向や

遺伝子発現は由来する体細胞の性質に非依存的であることを明らかにした。この発見は、再プログラム化体細胞核がES細胞核と同様に振る舞える事を示している。再プログラム化の分子機構を探る目的で、再プログラム化によるクロマチン構造の変化をクロマチン免疫沈降法により解析した。その結果、体細胞では全体的に堅いクロマチンを形成するのに対し、未分化細胞では緩いクロマチンの印であるヒストン H3 lysine4 のメチル化が遺伝子発現の有無にかかわらず確認された。我々は、ゲノム再プログラム化機構として、体細胞エピジェネティクスの消去と未分化エピジェネティクスの確立の2段階説を提唱し、それぞれのプロセスに働く機構や因子の解析に勢力を注いでいる。



(A) 哺乳類生殖系細胞の発生分化過程。(B-D) 雄生殖細胞の各分化段階毎の *in vivo* 遺伝子導入(EGFP): (B) 精原細胞(2n), (C) 精母細胞(4n), (D) 精子細胞(n)。

(1) Molecular and cellular mechanisms of development and differentiation of mammalian germ cells.

The succession between germ cells and pluripotent cells are fundamentals for ontogeny of individuals and continuity through generations in mammals, and molecular mechanisms underlying the germ-line cells serve as basal states during derivation of somatic cell lineages. Our research aim is to reveal such basic molecular systems present in the germ-line cells, and we are currently focusing on chromatoid body/nuage structures (germ granules in mice), by identification and functional analyses on components of the structures. We have shown that proteins containing multiple tudor domains specifically localize to the chromatoid body/nuage structures. One of such component, tudor repeat 1, makes complex with spliceosomal snRNPs and targeted disruption of the gene causes deficiencies in male germ cell differentiation. After devising an *in vivo* electroporation system, which enables forced gene expression at each differentiation stage of postnatal male germ cells, we are also carrying out gain-of-function and dominant-negative studies of chromatoid body/nuage components *in vivo*.

(2) Molecular mechanisms to control neural development and neuronal differentiation.

The mammalian nervous system comprises an enormous number of cell types. We have been trying several approaches at the both cellular and molecular levels to understand how neuronal identity is determined. The *in vivo*

electroporation method into the mouse nervous system has been developed in order to analyze gene function in vivo. A mammalian Bar-class homeobox gene, MBH1, is expressed by commissural neurons in the developing spinal cord and plays a pivotal role in the determination of commissural neuron identity.

(3) Molecular mechanisms of nuclear reprogramming of somatic cells.

Our body is built by an incredible variety of cell and tissue types, which develop from a single fertilized egg through embryogenesis. Those cells are basically classified into two types of cells; somatic cells and germ cells. Somatic cells function in forming and maintaining body parts only for a generation, while germ cells including gametes and their precursor cells are diversified for transmitting genetic information to the next generation. It has been shown that determination of cell fate is epigenetically regulated through activation or repression of specific genes. Nuclear reprogramming is a phenomenon that a specialized somatic cell acquires pluripotential competence, which is defined by multi-lineage differentiation, due to reset of epigenetic memory of the somatic cell. Recent development of a technology of embryo manipulations achieves epigenetic reprogramming by nuclear transplantation of a somatic cell to enucleated oocytes as seen by production of cloned animals in many species. We found that embryonic stem (ES) cells, which have the robust capability of self-renewal with pluripotency under culture conditions, retain the nuclear reprogramming activity as shown by cell hybridization with a somatic cell. Cell hybridization technology may, therefore, have potential to make an important contribution to personal therapeutic applications without the need for cloning.

To evaluate the full potential of a reprogrammed somatic genome, we have generated inter-subspecific hybrid cells with *Mus musculus domesticus* ES cells and *M. m. molossinus* somatic cells or vice versa, in which frequent DNA sequence polymorphisms allow us to monitor the origin of gene expression. Consequently, it has been revealed that the reprogrammed somatic genome has gained nuclear competency for transcription of mRNAs specific to various types of tissues derived from the hybrid cells. Thus, it is likely that the reprogrammed somatic genomes function equivalent to the ES genomes in differentiated cells. In the next, to understand molecular mechanism of the nuclear reprogramming, changes of chromatin structure of somatic nuclei after cell hybridization with ES cells were analyzed by immunocytochemical and chromatin immunoprecipitation assays. We have demonstrated that the acquisition of pluripotential competence by a reprogrammed somatic genome is accompanied, independent of gene activity, by global de-condensation of the somatic cell-derived chromatin. This is most clearly marked by hyper-di-methylation at histone H3 lysine 4. We have proposed that this erasure of somatic cell-specific histone modifications is a crucial step in the induction of successful nuclear reprogramming.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Chuma, S., Hiyoshi, M., Yamamoto, A., Hosokawa, M., Takamune, K., Nakatsuji, N. : Mouse Tudor Repeat-1 (MTR-1) is a novel component of chromatoid bodies/nuages in male germ cells and forms a complex with snRNPs. Mech. Dev. **120** : 979-990 (2003)

Kasai, S., Chuma, S., Motoyama, N., Nakatsuji, N. : Haploinsufficiency of Bcl-x leads to male-specific defects in fetal

- germ cells : differential regulation of germ cell apoptosis between the sexes. *Dev. Biol.* **264** : 202-216(2003) .
- Saba, R., Nakatsuji, N., Saito, T. : Mammalian BarH1 confers commissural neuron identity upon dorsal cells in the spinal cord. *J. Neurosci.* **23** : 1987-1991(2003))
- Kimura, H., Tada, M., Hatano, S., Yamazaki, M., Nakatsuji, N., Tada, T. : Chromatin reprogramming of male somatic cell-derived XIST and TSIX in ES hybrid cells. *Cytogenet Genome Res.*, **99** : 106-114(2002) (2002 であるが 2003 に発刊)
- Tada, M., Morizane, A., Kimura, H., Kawasaki, H., Ainscough, J. F., Sasai, Y., Nakatsuji, N., Tada, T. : Pluripotency of reprogrammed somatic genomes in embryonic stem hybrid cells. *Dev. Dyn.*, **227** : 504-510(2003) .

2) 著 書

- 中辻憲夫, 中馬新一郎 : 多能性幹細胞と胚形成・生殖系列, 「再生医学の基礎 幹細胞と臓器形成」(中辻憲夫編, 名古屋大学出版会, 名古屋) 1-29(2003)
- 中辻憲夫 : ES 細胞による再生医療, 「分子生物学」(第2版)(田沼靖一編, 丸善株式会社) 347-360(2003)
- Tada, T. : Overview of nuclear reprogramming. In “Cell Reprogramming and Transgenesis by Nuclear Transfer in Vertebrates”(Verma, P and Trounson, A.O., eds) : in press, Humana Press, USA
- Tada, M., Tada, T. : Electrofusion : Nuclear reprogramming of somatic cells by cell hybridization with pluripotential stem cells. In “Cell Biology : A Laboratory Hand Book, 3rd Edition”(Celis, J. ed) : in press, Academic Press, USA

3) 総 説

- 中辻憲夫 : 人の体はどこまで再生できるのか . 日経サイエンス 33 巻 6 号 18-21(2003)
- 多田政子, 多田 高 : ES 細胞による体細胞の再プログラム化 . 実験医学 21 : 124-129(2003)
- 多田政子, 多田 高 : ES 細胞の融合によるリプログラミング . Molecular Medicine 40 : 48-56(2003)
- 多田政子, 多田 高 : ES 細胞・リンパ球・ES 融合細胞 . 中外医学社 21 : 1131-1133(2003)
- 木村博信, 多田政子, 多田 高 : ES 細胞による体細胞ゲノム再プログラム化の分子機構 . 現代医療社 35 : 55-70 (2003)
- 多田 高, 多田政子 : 生殖細胞の分化過程における核の再プログラム化 . 分子細胞治療 2 : 51-56(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 三宅顕三, 齋藤大樹, 山本章嗣, 鈴木徹, 中辻憲夫, 中辻孝子 : シロウオ vasa mRNA 局在部位の除去による始原生殖細胞形成への影響 . 日本発生生物学会代 36 回大会 (2003.6.11-12. 札幌)
- 長谷川光一, 中辻憲夫 : 細胞移植治療にむけたインスレーターの応用 . 第 26 回日本分子生物学会年会シンポジウム「染色体境界決定・サイレンシンー抗サイレンシングの分子機構とその医薬農工学への応用」(2003.12.11. 神戸)
- Miyagi, S., Saito, T., Masuyama, N., Gotoh, Y., Nishimoto, M., Muramatsu, M., Okuda, A. : The Sox-2 regulatory region 2 specifies multipotent state specific expression in both ES and neural stem cells. International Society for Stem Cell Research 1st annual meeting(2003. 6.9. Washington, USA)

Saito, T., Saba, R., Nakatsuji, N.: Mammalian Bar-class homeobox gene, MBH1, specifies commissural neuron identity downstream of Math1. Society for Neuroscience 33th annual meeting(2003.11.9. New Orleans, USA)

宮城聡, 斎藤哲一郎, 水谷健一, 岩間厚志, 中内啓光, 増山典久, 後藤由季子, 升井伸治, 丹羽仁史, 西本正純, 村松正美, 奥田晶彦: 複数の多能性幹細胞における Sox-2 エンハンサー, SRR2 の機能とその分子メカニズムの共通性. 日本分子生物学会第 26 回年会(2003.12.12. 神戸)

Kimura, H., Tada, M., Nakatsuji, N., Tada, T.: Chromatin reprogramming of somatic nuclei in ES hybrid cells “Key Stone Symposium: Chromatin: Organizing the Genome for Patterns of Gene Expression in Health and Disease”(2003.1.10-15. USA)

Kimura, H., Tada, M., Yamazaki, M., Hatano, S., Nakatsuji, N., Tada, T.: Chromatin reprogramming of male somatic cell-derived Xist and Tsix in ES fusion cells “Key Stone Symposium: Chromatin: Organizing the Genome for Patterns of Gene Expression in Health and Disease”(2003.1.10-15. USA)

木村博信, 多田政子, 中辻憲夫, 多田 高: ES 細胞による体細胞核再プログラム化機構の解明. 日本発生生物学会第 36 回年会(2003.6.11-13. 札幌)

三瀬名丹, 清澤秀孔, 多田高, 阿部訓也: マウス未分化幹細胞におけるマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析. 日本発生生物学会第 36 回年会(2003.6.11-13. 札幌)

秦野慎矢, 多田政子, 木村博信, 河野友宏, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 未分化特異的な *Nanog/Stm1* 遺伝子と疑似遺伝子 *Stm2* の発現. 日本遺伝学会第 75 回年会(2003.9.24-26. 仙台)

木村博信, 多田政子, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 多能性維持因子 *Nanog/Stm1* タンパク質の発現パターン “第26回日本分子生物学会年会”(2003.12. 10-13. 神戸)

2) 講演・シンポジウム

Nakatsuji, N.: Establishment and utilization of monkey and human ES cell lines in Japan: current status and future prospects. Asia Pacific Stem Cells and Cloning Summit 2003(2003.1.15. Singapore)

中辻憲夫: ES 細胞の万能性と再生医学. 第 9 回 KCRF(The Kansai Cardiovascular Research Forum)(2003.2.15. 京都)

中辻憲夫: 再生医学・医療における幹細胞の役割と細胞の万能性. 第 80 回日本生理学会大会シンポジウム「再生医学, 医療と生理学の接点を探る」(2003.3.26. 福岡)

Nakatsuji, N.: Establishment and Manipulation of Primate ES Cell Lines for Application in Medical Sciences. The Croucher Foundation Advanced Study Institute on Advances and Challenges of Stem Cell Research.(2003.3.3. Hong Kong)

中辻憲夫: 特別講演「ES 細胞と再生医学」Liver Forum in Kyoto 第 5 回学術集会 (2003.3.29. 京都)

中辻憲夫: 生殖細胞系列の発生分化. 第 26 回日本医学会総会シンポジウム「発生分化」(2003.4.6. 福岡)

中辻憲夫: 招請講演「ヒト ES 細胞と再生医療の明日」第 55 回日本産科婦人科学会学術講演会(2003.4.13. 福岡)

中辻憲夫: 幹細胞・再生医療研究と実験動物. 大 50 回日本実験動物学会総会シンポジウム「再生医療・細胞治療技術の開発と実験動物」(2003.5.30. 大宮)

中辻憲夫: 幹細胞研究と医学応用. 日本発生生物学会代 36 回大会シンポジウム「幹細胞・クローン動物研究と社会的課題」(2003.6.13. 札幌)

中辻憲夫: 特別講演「ES 細胞研究と再生医学」第 19 回日本 DDS 学会(2003.6.20. 京都)

中辻憲夫：胚性幹細胞(ES細胞)を巡る研究と再生医療．第41回健康指標プロジェクト例会(2003.6.21. 京都)

中辻憲夫：ES細胞と再生医学 - サルとヒトES細胞株の樹立と再生医療への展望．第20回大阪血液学研究会
(2003.7.4. 大阪)

中辻憲夫：ES細胞を用いた医学研究と再生医療．第40回日本臨床分子医学会学術総会シンポジウム「ヒトはどこ
まで再生できるか」(2003.7.11. 東京)

中辻憲夫：ヒトES細胞株の樹立と再生医学．京都大学再生医科学研究所開所5周年記念シンポジウム(2003.10.6.
京都)

中辻憲夫：胚性幹細胞(ES細胞)と再生医学．第6回組織工学・再生医学ワークショップ(2003.10.25. 神戸)

Nakatsuji, N.: Establishment and manipulation of primate ES cell lines. 2003 Seoul Symposium on Stem Cell Research
(2003.10.27. Seoul)

中辻憲夫：多能性幹細胞と生殖系列および再プログラム化．第24回日本炎症・再生医学会シンポジウム「幹細胞
の本質を問う」(2003.11.26. 京都)

中辻憲夫：ヒトES細胞株の樹立と医学研究への利用．第30回医学系大学倫理委員会連絡会議(2003.12.12. 神戸)

長谷川光一，中辻憲夫：インスレーターを用いた導入遺伝子の発現制御．大阪大学蛋白質研究所セミナー「ゲノム
の境界とインスレーター」(2003.1.16. 大阪)

中馬新一郎，中辻憲夫：雌雄生殖細胞の分化プログラム．特定領域公開シンポジウム「生殖細胞の発生プロセス・
再プログラム化とエピジェネティクス」(2003.2.6. 京都)

斎藤哲一郎：神経細胞の運命決定機構．名古屋大学アイソトープ総合センターセミナー(2003.1.23. 名古屋)

斎藤哲一郎：脊髄交連ニューロンの運命決定機構．特定領域研究「神経回路の成熟と特異的機能発現のメカニズム」
シンポジウム(2003.1.29. 東京)

斎藤哲一郎：MBH1の機能と神経細胞の運命決定機構．埼玉医科大学ゲノム研究センターセミナー(2003.5.12 東京)

斎藤哲一郎：交連ニューロンの運命決定機構．特定領域研究「先端脳」主催ワークショップ「神経発生生物学の先
端的研究」(2003.8.1. 東京)

Saito, T.: Electric pulses and transcriptional cascades to generate commissural neurons in the spinal cord. Harvard
University(2003.11.13. Boston, USA)

多田 高：細胞融合による体細胞核再プログラム化の分子機構．東大友会セミナー(2003.2.17. 東京)

Tada, T.: Possible application of somatic genome reprogramming to regenerative medicine “Japan-Taiwan Symposium
on Stem Cell and Tissue Engineering”(2003.3.8. Kyoto)

多田 高：体細胞核の再プログラム化分子機構．国立遺伝学研究所研究会(2003.3.13-14. 三島)

Hatano, S., Tada, M., Kimura, H., Kono, T., Nakatsuji, N., Tada, T.: A novel stem cell-specific gene, Stm1 required for
maintaining pluripotency “XIX International Congress of Genetics”(2003.7.6-11. Australia)

多田 高：ゲノム再プログラム化による体細胞核の全能性獲得機構．京都大学再生研セミナー(2003.10.17. 京都)

多田 高：細胞融合による体細胞遺伝情報のリプログラミング．千里ライフサイエンスセミナー(2003.11.11. 大
阪)

多田 高：ES細胞のゲノム再プログラム化活性；体細胞再プログラム化の分子機構．細胞生物学セミナー”
(2003.11.14. 大阪)

三瀬名丹，清澤秀孔，多田高，阿部訓也：EG細胞で発現するゲノム再プログラム化に関わる遺伝子の探索．第26
回日本分子生物学会年会ワークショップ(2003.12.10-13. 神戸)

再生誘導研究分野

Department of Medical Embryology and Neurobiology

分野主任 教授 笹井 芳樹

Prof. Yoshiki Sasai

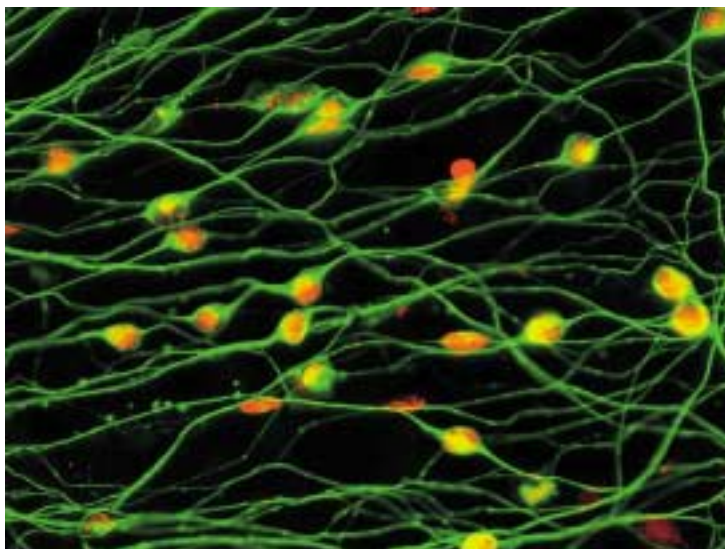
【研究概要】

本研究室では哺乳類を含めた脊椎動物の初期発生、特に神経系の発生制御の分子機構を中心に研究を進めている。さらにその知見をもとに試験管内での神経分化系を確立し、再生医学応用への基盤を確立する。笹井は以前に75年前ハンス・シュペーマンが予言した神経誘導因子 Chordin をアフリカツメガエルの系を用いて単離し、その機能を解析してきた。Chordin は新規の分泌因子で未分化外胚葉に作用すると、これを神経組織に分化誘導する活性を有する。Chordin のショウジョウバエの相同遺伝子 Sog もハエの神経形成の制御因子であることが判明し、広く動物界でこの因子が神経分化の上流制御因子として働いていることが明らかとなった。現在の主たるプロジェクトは、

- (1) 未分化外胚葉細胞から神経への分化制御機構
- (2) ニューロンの多様性と領域化獲得の分子基盤
- (3) マウス ES (胚性幹) 細胞からの試験管内神経分化系の確立

である。

(2) 神経系のパターン形成に關与する分泌因子についてシグナル・ペプチド・セレクション法を用いて、系統的に単離し、新規の分泌因子を複数得た。前脳領域から中脳領域をかけた前方神経板と接する非神経外胚葉に強く発現する新規分泌タンパク因子 Tiarin が同定された。Tiarin は未だ解析が進んでいない分泌糖蛋白 Olfactomedin ファミリーに属する。アフリカツメガエルを用いた mRNA 微量注入法による Tiarin の強制発現では、胚の外胚葉において Pax3, Zicr-1 などの背側神経マーカーが強く誘導され、逆に Nkx2, HB9, Pax6, Shh などの腹側神経マーカーは強く抑制された。この「神経組織の背側化活性」は単離した神経外胚葉組織(アニマルキャップ・アッセイ)でも確認され、Tiarin の直接効果であることが明らかとなった。また、Tiarin は Shh の神経腹側化活性と拮抗するが、Tiarin シグナルは Shh, BMP, Wnt などの既存のシグナル系と直接的に干渉するのではなく、独自のシグナル系をなしていることが示唆された。(1)(3) マウス ES 細胞から試験管内で神経前駆細胞やニューロンを分化させる系を確立したが、H14 年度はサル ES 細胞から同様の分化誘導が得られるかを検討し、ドーパミン神経への分化誘導に成功



サル ES 細胞から SDIA 法と BMP 処理で分化させた知覚神経細胞

した。脳外科との共同で移植実験を行っている。さらにマウスやサルの ES 細胞から中枢神経系の背腹軸に沿った多様な神経細胞や神経堤細胞を分化誘導することに成功した。

Department of Medical Embryology & Neurobiology focuses on molecular mechanisms underlying early vertebrate development, especially development of nervous systems. We are also aiming at medical application of in vitro differentiation of neurons.

Before Sasai started his lab in this institute, he had isolated a neural inducer, Chordin, which had been predicted by the Nobel Prize winner Hans Spemann. Chordin, a novel secreted factor, can induce neural tissues from immature ectoderm, which otherwise gives rise to epidermis. Interestingly, the *Drosophila* homologue of Chordin, sog, turned out to be an upstream regulator of neurogenesis in fly, suggesting that Chordin is used ubiquitously for neural regulator in the animal kingdom.

Our current projects are as follows :

- (1) Molecular control of neural differentiation from uncommitted ectoderm.
- (2) Molecular basis for diversity of neurons.
- (3) In vitro differentiation of ES cells into neural tissues.

This year, we focused on analysis of a new signaling factor Tiarin. We systematically screened for genes involved in cell-cell interactions during early neural patterning by using the Signal-Peptide-Selection method. Tiarin is expressed in anterior non-neural ectoderm of *Xenopus* embryos. Tiarin overexpression show strong dorsalization of embryonic neural tissues. Tiarin works in an independent signaling pathway from that of Shh, BMP or Wnts. (3) We previously established an efficient system to induce neural differentiation of mouse ES cells in vitro by using SDIA (stromal cell, -derived inducing activity). By using this system, we could induce differentiation of specific types of neurons such as dopaminergic neurons. This year we showed that the SDIA method is applicable to primate ES cells. This indicates a promising utility of this method for regenerative medicine of Parkinson's disease. We have also modified the SDIA method by combining with patterning signals and successfully induced various CNS neurons as well as the neural crest.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Mizuseki, K., Sakamoto, T., Watanabe, K., Muguruma, K., Ikeya, M., Nishiyama, A., Arakawa, A., Suemori, H., Nakatsuji, N., Kawasaki, H., Murakami, F. and Sasai, Y. (2003) Generation of Neural Crest-Derived PNS Neurons and Floor Plate Cells from Mouse and Primate ES Cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 100, 5828-5833
- Haruta, M., Sasai, Y., Kawasaki, H., Amemiya, K., Ooto, S., Kitada, M., Suemori, H., Nakatsuji, N., Ide, C., Honda, Y. and Takahashi, M. (2003) In vitro and in vivo characterization of pigment epithelial cells differentiated from primate embryonic stem cells. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** (in press).
- Tada, M., Morizane, A., Kimura, H., Kawasaki, H., Ainscough, J.F.X., Sasai, Y., Nakatsuji, N. and Tada, T. (2003)

Pluripotency of reprogrammed somatic genomes in ES hybrid cells. **Dev. Dyn.** 227, 504-510

Ooto, S., Haruta, M., Honda, Y., Kawasaki, H., Sasai, Y. and Takahashi, M. (2003) Induction of the differentiation of lentoids from primate embryonic stem cells. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** 44, 2689-2693.

◆ 学会等の発表 ◆

2) 講演・シンポジウム

笹井芳樹：幹細胞を用いた神経再生医学「日本医学会総会」(2003.4.5. 福岡)

笹井芳樹：幹細胞医学：関西での再生医学研究と連携「日本香粧学会大会」(2003.6.6. 東京)

再生増殖制御学分野

Department of Growth Regulation

分野主任 教授 瀬原(藤沢)淳子

Prof. Atsuko Sehara(Fujisawa)

【研究概要】

多細胞生物の個体としての調和した成長は、それら細胞間の接着やシグナルのやりとりなどの相互作用に依存している。私達の研究グループは、発生や形態形成にかかわる、それら細胞間相互作用の分子実体を解明することをひとつの大きな目標としている。その解明はさまざまな疾病の理解と治療の基盤をなすものである。

現在特に私達が着目するのは、プロテアーゼによる細胞間相互作用制御、特に発生・形態形成に関わる機能因子としてのシグナル分子やそのリセプターあるいは接着分子などの、タンパク分解によるプロセッシング制御である。私達は、近年 ADAM(メタロプロテアーゼおよびディスインテグリンドメインを有する)ファミリーに属する膜型プロテアーゼ遺伝子、メルトリン $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ をクローニングし、メルトリン α (ADAM12) が、筋形成を制御していることを見出した。これは体細胞で発現する ADAM 遺伝子として最初に同定されたものであり、この遺伝子群が形態形成の制御に機能していることを世界に先駆けて示したものであった。その後 ADAM ファミリーに属するショウジョウバエの遺伝子 *kuzbanian* が細胞分化にかかわる Notch シグナルの活性化をおこなっているらしいこと、TNF α のプロセッシングをおこなう酵素(TACE)がやはりこのファミリーに属する遺伝子によりコードされていることなどが報告された。私達は、メルトリン β (ADAM19) が膜型シグナル分子で心臓の形成や神経分化に関与するニューレギュリン(膜型 ErbB リガンド)の細胞外ドメインを切断し可溶性分子に変換する“ectodomain shedding”の活性をもつプロテアーゼであることを報告してきた。これらの研究は、多くの膜型シグナル分子の切断活性化が、細胞間シグナルを制御していることを示している。

では、そのような切断制御は、その細胞間シグナリングの中でどのような位置づけを担っているのだろうか。また形態形成においては、どのような役割を果たしているのだろうか。それらを明らかにする目的で、メルトリン α 、メルトリン β 遺伝子のノックアウトマウスを作成した。メルトリン α 欠損マウスに関しては、昨年度の報告を

参照していただきたい。

メルトリン β 遺伝子は、心臓の形成や、神経組織の形成に関わることがわかった。メルトリン β のプロテアーゼドメインの活性部位欠損マウスを作成することにより、このプロテアーゼが心臓においては心室膜性中隔・房室弁など心内膜由来の膜組織の形成に必須であることがわかった(Fig.1A,B および G,H)。ほとんどのノックアウトマウスは生後まもなく死んでしまい、生き残ったものも、弁形成不全のために心室の著しい拡張が見られた(Fig. C-F)。また、Fig. 2 は、副腎髄質にはいる神経束を示したものであるが、メルトリン β の欠損により、神経がまとまらず、バラバラになってしまうことがわかる。この研究は、ADAM ファミリープロテアーゼが、シグナル分子の時間的・空間的なチューニングを行うことによって、細胞分化や形態形成に寄与することを証明したものである。

私達はこれらのメルトリンの研究を通じて、膜分子の蛋白分解による形態形成の制御が、未だ謎に満ちた、チャレンジングな領域であることを認識しはじめています。細胞外や膜直下で限定的に分解される膜分子は生体内に非常に多く存在し、それらが多様なプロテアーゼの基質となりうることが次々に見つかってきている。それらプロテアーゼ活性あるいは基質の認識は、いったいどのような分子機構により制御されているのか、そしてそれらの分子機構は形態形成や生体機構をいかに時空的に制御しているのか、を解明することにより、今後、細胞間相互作用を新しい観点から示すことができるであろう。

(English)

Coordinated development of multi-cellular organisms depends on intercellular communications and adhesions. Our research has been focused on regulatory mechanisms of such cell-cell interactions during development. Numerous intercellular signaling molecules are generated as membrane-anchored proteins, and they are subjected to proteolytic processing to liberate their extracellular domains (ectodomain shedding). Molecular bases that regulate the ectodomain shedding processes are coming into focus. We have found previously that Meltrin β /ADAM19, a membrane-bound metalloprotease can cleave off the extracellular region of Neuregulin- β (NRG β 1), one of the main neural ErbB ligands, from its membrane-anchored form.

In the present study, we examined whether Meltrin β plays important roles in development or morphogenesis. Generation of meltrin β gene knockout (Meltrin $\beta^{-/-}$) mice revealed that Meltrin β participates in the development of the endocardial cushion of the heart. Mice lacking Meltrin β exhibit ventricular septal defect (VSD) and immature valves, and most of the animals die soon after birth. Surviving Meltrin $\beta^{-/-}$ mice showed prominent enlargement of the heart, particularly of the right ventricle (Figs. 1). The absence of Meltrin β also caused defects in the nervous system.

Fig 1

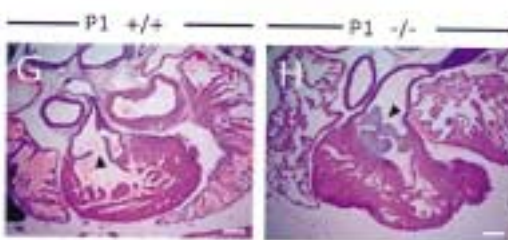
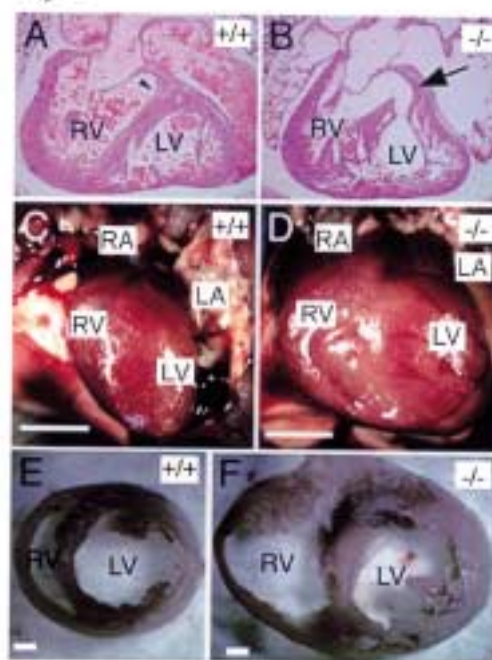


Fig 2

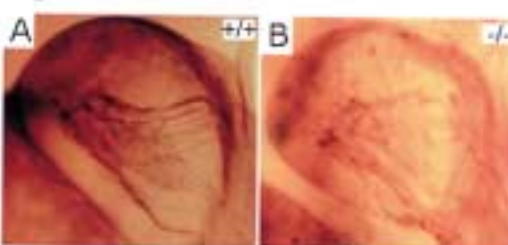


Fig.2 shows impaired penetration of thick preganglionic neuron bundles into the adrenal medulla in Meltrin $\beta^{-/-}$ mice. Our study indicated the necessity of proteolytic regulation of ErbB ligands by Meltrin β for proper heart and neural development.

Studies on ADAM proteases raise many questions. What kinds of molecular mechanisms regulate cleavages of the membrane-anchored proteins? How does each mechanism modulate morphogenesis and other biological functions temporally and spatially? Investigations on these questions will elucidate novel aspects of intercellular signaling.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Kurisaki T, Masuda A, Sudo K, Sakagami J, Higashiyama S, Matsuda Y, Nagabukuro A, Tsuji A, Nabeshima Y, Asano M, Iwakura Y, Sehara-Fujisawa A. Phenotypic analysis of Meltrin α (ADAM12) deficient mice: involvement of Meltrin α in adipogenesis and myogenesis. *Mol Cell Biol.* Jan; 23(1): 55-61. (2003)
- Kurohara K., Kurisaki T., Masuda A., Asano M., Katsuko Sudo, K., Nabeshima Y., Iwakura Y., and Sehara-Fujisawa A. Essential Roles of Meltrin β / ADAM19 in Heart Development. *Developmental Biol.* 267, 14-28. (2004)
- Wakatsuki S., Kurisaki T., Sehara-Fujisawa A. Lipid rafts identified as locations of ectodomain shedding mediated Meltrin β / ADAM19. *J. Neurochemistry* (in press)
- Watabe-Uchida M, Masuda A, Shimada N, Endo M, Shimamura K, Yasuda K, and Sehara-Fujisawa A. A Novel Metalloprotease-Disintegrin, Meltrine (ADAM 35) Expressed in Epithelial Tissues during Chick Embryogenesis. *Dev Dynamics* (in press)

2) 著書および総説

- 入江直樹, 瀬原淳子: 筋肉系形成, 「発生生物学がわかる」(上野直人, 野地澄晴, 編集), 羊土社(東京) pp.83-88 (2003)
- 若月修二, 瀬原淳子: ADAM ファミリーとその機能, 実験医学増刊号「タンパク質修飾・分解の新機能に迫る」(田中啓二, 西道隆臣, 編集), 羊土社(東京) 22(2) (2004) (印刷中)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 黒原一人, 小松紘司, 若月修二, 富田幸子, 浅野雅秀, 岩倉洋一郎, 鍋島陽一, 瀬原淳子: 心臓形成におけるメルトリン β / ADAM19 の役割, 第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.10. 神戸)
- 小松紘司, 黒原一人, 若月修二, 岩倉洋一郎, 瀬原淳子: 心臓の形態形成における Meltrin β / ADAM19 の機能解析, 第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.12. 神戸)
- 湯本法弘, 若月修二, 瀬原淳子: 骨格筋型 AchR サブユニット変換を指標とした筋成熟機構の解析と in vitro における解析系の確率, 第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.12. 神戸)

2) 講演・シンポジウム

Atsuko Fujisawa-Sehara: Roles of ADAMs in ErbB Signalling, Second International Workshop of the SFB549 on Signalling from the ECM to the Nucleus in Animals and Plants (2003.2.20. ドイツ)

Kazuto Kurohara, Tomohiro Kurisaki, Aki Masuda, Shuji Wakatsuki, Yo-ichi Nabeshima, Yoichiro Iwakura, and Atsuko Fujisawa-Sehara: ROLES OF MELTRIN BETA/ADAM19 IN HEART DEVELOPMENT, 第1回 CDB シンポジウム - The Origin and Formation of Multicellular Systems (2003.3.25. 神戸)

瀬原淳子: 細胞間シグナルを制御する ADAM プロテアーゼ, 第56回日本細胞生物学会大会 (2003.5.16. 滋賀)

瀬原淳子: ADAM ファミリープロテアーゼ: 形態形成・疾患との関わり, 医学研究講義 (大学院 Weekly Seminar イブニングセミナー) (2003.5.26. 鹿児島)

Tomohiro Kurisaki, Kazuto Kurohara, Shuji Wakatsuki, Aki Masuda, Mitsuko Uchida, Kyoko Shirakabe, Kohji Komatsu, Masateru Endo, Naoki Irie, Norihiro Yumoto, Yoichiro Iwakura, Yo-ichi Nabeshima, Atsuko Sehara-Fujisawa: Roles of Meltrins in Morphogenesis, ワークショップ「発生・疾患にかかわる ADAM・ADAMTS プロテアーゼ研究の現状」, 第76回日本生化学会大会 (2003.10.15. 神奈川)

Kazuto Kurohara, Koji Komatsu, Tomohiro Kurisaki, Shuji Wakatsuki, Atsuko Sehara-Fujisawa: ROLES OF MELTRIN BETA IN HEART シンポジウム「ADAM Family」, 3rd General Meeting of the International Proteolysis Society (第3回国際蛋白分解学会) (2003.11.11. 名古屋)

瀬原淳子: 細胞間相互作用における ADAM プロテアーゼメルトリンの役割と機能, 平成15年度日本生化学会近畿支部シンポジウム「脂質・糖鎖 vs タンパク質相互作用により制御される細胞内品質管理のダイナミズム」 (2003.11.21. 京都)

瀬原淳子, 栗崎知浩, 若月修二, 黒原一人, 増田亜紀, 正木めぐみ, 小松紘司, 湯本法弘: 筋形成におけるメルトリン $\alpha \cdot \beta$ の役割, 平成15年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費「筋ジストロフィーに関連する疾患の病態解明と治療法の開発に関する研究」清水班班会議 (2003.12.6. 東京)

瀬原淳子: 組織構築における膜型 ADAM プロテアーゼの役割, 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「細胞分化における細胞間相互作用の変換機構」平成15年公開シンポジウム「細胞の分化と組織構築のダイナミズム」 (2003.12.9. 京都)

再生免疫学分野 Department of Immunology

分野主任 助教授 喜納 辰夫

Assoc. Prof. Tatsuo Kina

【研究概要】

本研究分野では現在, 2つの主要なテーマについて研究を行っている。一つは, 我々が独自に樹立したアトピー

性皮膚炎や感染性の結膜炎や中耳炎に似た症状を発症するアレルギー発症モデルマウス(BALB/c.CD45.1)のアレルギー発症の原因を分子レベルで解明することと、その治療モデルを確立することである。2つ目は、造血幹細胞からT細胞初期分化における転写調節因子の役割を、我々が開発した独自の手法を用いて細胞レベルおよび分子レベルにおいて解明することである。

1. アレルギー発症モデルマウス BALB/c.CD45.1 における免疫異常の分子機構

CD45は、血液系細胞の特異的なマーカーとして知られ、リン酸化チロシン特異的な脱リン酸化酵素活性を持つ。その役割として、Src型チロシンキナーゼの活性を正・負の方向に調節することにより、リンパ球の抗原受容体からのシグナル伝達の調節、感染や炎症におけるマクロファージや顆粒球などの活性を制御することなどが報告されている。最近ヒトにおいて、CD45の細胞外部位における突然変異や欠失が重症な免疫不全症を誘導することや細菌感染への抵抗性の低下、Bリンパ球性白血病などを引き起こすことなどが報告され、生体防御機構における新たな役割が注目されている。我々は造血幹細胞の移植モデルマウスとして開発したBALB/cバックグラウンドのCD45.1 congenic マウスが、通常のBALB/cマウス(CD45.2)に比べて、生後半年以降、高頻度で頭部や背部の皮膚炎、目や耳にアレルギー性の炎症を発症することを見出し、CD45のハプロタイプ型の違いによって免疫系の調節機構に異常が生じる可能性を示した。CD45.1マウスにおける免疫異常を検討した結果、(1) 血中IgEの顕著な増加、(2) Th2型サイトカインの産生亢進、(3) B細胞のLPS反応性の異常、(4) 抗原刺激後のJak3/Stat6のリン酸化異常、(5) gクラススイッチに関連するAIDやIgE germline messageの発現亢進、などの現象が認められた。これらの結果は、CD45.1マウスが環境因子に対して過剰に反応してアレルギーを発症していること、さらに、発症の原因がCD45.1の脱リン酸化酵素活性の低下によるリンパ球活性化の調節異常によって引き起こされていることを示すものと考えられる。今後、CD45.1分子の活性低下の原因を分子レベルで明らかにするとともに、RNAアプタマーやsiRNAなどのRNA創薬の手法を用いた副作用の少ないアレルギー治療法の開発も進めたい。

2. T/NK前駆細胞の分化における転写調節因子Id2の役割

マウス胎仔胸腺にはT/NK共通前駆細胞が存在している。我々は、転写因子E蛋白の阻害因子であるId2が共通前駆細胞で発現すると、NK前駆細胞に分化することをこれまでに明らかにしてきた。T/NK細胞分化におけるId2の役割を調べるために、単一の胸腺前駆細胞に遺伝子を導入して分化・増殖させる系を開発し、この系を用いてT系前駆細胞にId2を強制発現させたときの影響を解析した。まず、最も初期段階のT前駆細胞に導入した場合、T前駆細胞がNK前駆細胞に運命変換されたと考えられるデータが得られた。次に、T細胞レセプター β 鎖遺伝子の再構成を開始する直前の前駆細胞にId2遺伝子を導入すると、一部の細胞はNK細胞に分化するという結果を得た。本来ならばこのような細胞はほとんど存在していない。一方、 $\alpha\beta$ T細胞を作る前駆細胞はほぼ消失した。興味深いことに、一部のNK細胞ではT細胞レセプター β 鎖遺伝子の再構成が観察された。我々はこれまで、胎仔胸腺におけるId2の発現は最も未分化な分化段階の細胞に限られていることを示し、T/NK共通前駆細胞からNK前駆細胞とT前駆細胞に分かれると考えてきた。しかし今回の結果から、T前駆細胞に分化した直後の細胞もNK細胞に分化できる可塑性を有していることが判明した。なお、いずれの導入実験においても、導入したId2遺伝子を発現し続けている $\alpha\beta$ T細胞は得られなかったことから、E蛋白は $\alpha\beta$ T細胞の増殖または生存に不可欠であることが考えられた。

Our research project consists of two major areas. The first is the molecular mechanisms of inflammatory diseases of BALB/c.CD45.1 congenic mice, in which symptoms of atopic dermatitis, conjunctivitis and tympanitis are

spontaneously developed after 6 months of age. Our goal is to develop new effective cures for these diseases using the latest RNA technology. The second major line of investigation is directed towards elucidation of the role of transcription factors in the development of T and NK cells from hematopoietic stem cells.

(1) Molecular mechanism of immune disorders in BALB/c.CD45.1 congenic mice

CD45, a leukocyte-specific glycoprotein with tyrosine phosphatase activity, plays essential roles in both positive and negative regulation of src-family tyrosine kinases and is critically involved in antigen receptor-mediated activation of T and B lymphocytes. CD45 is also shown to be participated in the regulation of macrophage/granulocyte functions in various infectious and inflammatory diseases. Recently, it has been shown that minor mutations or deletions occurred in the extracellular domain of CD45 resulted in severe combined immunodeficiency or multiple sclerosis in humans, indicating that CD45 is also involved in various diseases. We have recently established a congenic strain of BALB/c mice with CD45.1 haplotype (BALB/c.CD45.1), and found that these mice frequently developed various inflammatory diseases such as atopic dermatitis, conjunctivitis and tympanitis after 6 months of age. Immune disorders of BALB/c.CD45.1 mice include (1) hyper IgE syndrome, (2) over-production of Th2 cytokines, (3) hyper LPS reactivity, (4) enhanced phosphorylation of Jak3/Stat6 after antigen stimulation, (5) elevated level of AID expression and germline IgE messages. These results suggest that the tyrosine phosphatase activity of CD45.1 molecules may be significantly lower than that of CD45.2 molecules and this defective activity causes dis-regulation of immune response, and hence hyper responsiveness to the environmental antigens in BALB/c.CD45.1 mice. In addition to the investigation of molecular mechanism of the disease, we are trying to establish new cures for these diseases by introducing the latest RNA technology.

(2) The role of transcription factor Id2 in the development of T/NK cell precursors.

Bipotent progenitors that are able to generate both T and NK lineage cells can be detected in the murine fetal thymus. We have previously shown that enforced expression of Id2, an inhibitor of transcription factor E proteins, restricts the bipotent progenitors only to generate NK lineage cells. Using newly-devised gene transduction method to single thymic progenitors and the HOX (high oxygen submersion) culture system, we investigated the effect of Id2 overexpression on the lineage commitment at the single cell level. We found, first, that Id2 expression generated only NK cells from the early thymic progenitors, suggesting the fate of Id2-transfected progenitors is altered from T to NK lineage. Second, enforced Id2 expression in the thymocytes at the stage just before the initiation of TCR β gene rearrangements allowed survival of some cells capable to produce NK cells, which were not generated with vector alone transduction. In contrast, no progenitors capable to produce $\alpha\beta$ T cells were detected. Interestingly, some NK cells are found to possess rearranged TCR β locus. In fetal thymus, Id2 is expressed at the most primitive developmental stage, when the T and NK precursors are generated from T/NK common precursors. Our data strongly suggest that thymic T progenitors, which produce only T cells in vivo, also have the plasticity to generate NK cells. In addition, lack of Id2 expressing $\alpha\beta$ T cells in our culture system suggests that E proteins are indispensable for proliferation or survival of $\alpha\beta$ T cells.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

喜納辰夫 : Arimitsu, N., Akimitsu, N., Kotani, N., Takasaki, S., Kina, T., Hamamoto, H., Kamura, K., Sekimizu, K. :
Glycophorin A requirement for expression of O-linked antigens on the erythrocytes membrane. *Genes to Cells*.
8 : 769-777(2003)

藤本真慈 : Kawamoto, H., Ohmura, K., Fujimoto, S., Lu, M., Ikawa, T., Katsura, Y. : Extensive proliferation of T cell
lineage-restricted progenitors in the thymus: an essential process for clonal expression of diverse T cell
receptor β chains. *Eur. J. Immunol.* 33 : 606-615(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

喜納辰夫 : BALB/c.CD45.1 マウスにおける免疫異常 . 第 13 回 Kyoto T Cell Conference . (2003.6.28. 京都)

喜納辰夫 : BALB/c.CD45.1 マウスにおける免疫異常の解析 . 33 回日本免疫学会総会 . (2003.12.8. 福岡)

藤本真慈, 喜納辰夫, 横田義史 : マウス胎仔胸腺における T 細胞分化と NK 細胞分化 . Kyoto T Cell Conference .
第 13 回集会(2003.6.27. 京都)

藤本真慈, 柿沼志津子, 島田義也, 喜納辰夫 : X 線照射あるいは ENU 処理で誘発されたマウス胸腺リンパ腫にお
ける TCR β 鎖遺伝子再構成と allelic exclusion . 第 33 回日本免疫学会学術集会(2003.12.8. 福岡)

藤本真慈, 喜納辰夫, 横田義史 : マウス胎仔胸腺における T/NK 共通前駆細胞と T 前駆細胞, NK 前駆細胞の関係 .
第 26 回日本分子生物学会年会(2003.12.12. 神戸)

生体システム医工学研究部門

生体機械工学分野

Department of Biomechanical Engineering

分野主任 池内 健

Prof. Ken Ikeuchi

【研究概要】

医療の目的は単に病気を治療することではなく、本来の機能と生活の質を再生させることである。本分野では、機械工学を医療に応用して、生体本来の機能を再建するための医療技術を開発・研究してきた。研究内容は、超音波と電磁力による早期診断技術の開発、血管治療技術と機器の開発、機能性組織の再生と評価、生体における潤滑機構の解明と損傷防止への応用であり、2003年に実施した主な研究の内容は次の通りである。

1. 超音波による軟骨変性の早期発見法

生体組織の物性を計測するために超音波パルスの反射波をウェーブレット変換する解析法を開発した。軟骨表面からの反射波強度と力学特性の相関関係を調べて動的弾性率、不均質性、厚さを正確に推定することにより、変形性関節症の原疾患である軟骨の変性を測定できる技術を確認し、移植軟骨や再生軟骨の機能を評価した。また試作した超音波関節鏡を臨床診断に応用した結果、膝軟骨の変性を検出することにより変形性関節症を早期に発見することが可能となった。

2. 脳卒中治療用カテーテルの頭蓋内におけるナビゲーション

脳出血や脳梗塞の治療のために開頭を必要としない血管内治療が普及しつつあるが、このような低侵襲治療は術者の高度な熟練と勘に頼るため危険が伴う。そこでカテーテルの挿入と治療をより安全にするために、カテーテルの先端に装着した微小な磁石からの磁界を体外に設置した15・24個の磁気センサーによって計測するシステムを開発した。センサーの情報をもとにニュートラルネットワーク技術によって3次元空間におけるカテーテル先端の位置と姿勢角を高精度で測定することができた。

3. 柔軟な脳動脈用ステントの開発

脳動脈瘤及び脳動脈の硬化を治療するための頭蓋内ステントを開発するための研究を実施した。有限要素解析と各種の力学試験によってステントの柔軟性、曲がりの限界値及びステントと血管内壁との接触圧力を調べ、きわめて柔軟で血管内壁を刺激・損傷しないステントの形状を追求した。その結果、症状に応じて頭蓋内ステントの形状を最適化することができた。

4. 生体組織表面における保護・潤滑作用の解明

生体表面にはすべりに対して低摩擦を保ち、



磁気センサによるカテーテル先端部の位置・姿勢検出システム
Magnetic sensor system to measure position and orientation of the catheter tip

損傷を防止する表面層が存在する。そこで関節軟骨の表面を調べた結果、これらの層は単に粘液が付着したものではなく、親水性の高分子が表面に強固に結合していることを明らかにした。また、これらは高分子ブラシ、親水性グラフト面、親水性表面ゲルなどと呼ばれる低摩擦面と本質的に同一であり、高分子自体ではなく引き付けられた水が潤滑作用を行っていることを実証した。

5. セラミック/セラミック人工関節の摩耗試験

セラミックは耐摩耗性が高いだけでなく、ポリエチレンのように生体反応が生じにくい。しかし時に割れ、欠け、剥離が生じて早期に抜去、交換する必要がある。安全性の高い人工関節を実現するためには脱臼などの異常な事態を想定した試験が必要である。そこでソケットのエッジと骨頭の接触をシミュレートした摩耗試験機を開発して人工関節用セラミックスの耐摩耗性と信頼性を評価し、摩耗試験に関する標準規格の原案を示した。

6. 歯科口腔機能の再生のための補綴物製作システムに関する研究

高齢化等による歯科口腔機能の損傷および低下の再生に用いられる補綴材料は生体親和性の良い材質のものが用いられるが、その加工法はしばしば困難であることがある。そこで、このような材料の加工法を追求し、生物学的適合性、力学的適合性および形態的適合性に優れた歯科補綴物の製作システムについて研究している

The main goal of medical therapy is not to cure diseases but to reproduce original function and high quality of life. New technologies including mechanical, magnetic, ultrasonic and optical method have been studied by use of finite element analysis. Mechanical engineers and surgeons have been collaborating effectively. Thus, ultrasonic diagnosis system for osteoarthritis, navigation system for intracranial catheter, design methodologies for coronary and intracranial stents and a standard of wear test for ceramic/ceramic total hip prosthesis were developed. Tribology in animal joints was studied in terms of aqueous lubrication in brush-like surface layer.

The research activities of the Department of Biomechanical Engineering in 2003 are summarized as follows :

1. Ultrasonic measurement to detect cartilage degeneration in early stage

We have developed a new method to measure surface properties of tissues. Dynamic modulus of elasticity, heterogeneity and thickness of articular cartilage were measured according to the correlation between the transition of the reflected wave and the mechanical properties. Mechanical properties and functions of regenerated and grafted cartilage were also measured by this method. In clinical application, the arthroscope with ultrasonic probe could detect softening of cartilage associated with degeneration and it has become possible to find osteoarthritis before the syndrome appears.

2. Magnetic system for navigating intracranial catheter

We have developed a system to measure position and attitude angle of intracranial catheter for intravascular treatment. The magnetic field from a miniature magnet at the top of the catheter was measured with highly sensitive 15 -24 probes located out of the body. Neutral-network technology was used to estimate location of the catheter from the magnetic field.

3. Biological lubrication of high water content layer on tissue surface

In a human body, slippery surface layers exist on articular cartilage, tendon/sheath interface and intestine wall lubricating and protecting the tissue from injury. According to our study, hydrophilic macromolecules attaching firmly to the tissue surface are swelled with water forming brush like structure. During sliding, the water attracted by the macromolecules prevents direct contacts and injury. The mechanism of lubrication is essentially common with the

ones called the steric repulsion in polymer brush, the surface grafted with hydrophilic polymers or the gel surface layer.

4. Wear properties of nano-composite materials for ceramic/ceramic prostheses

Life of alumina/alumina total hip prostheses is longer than that of conventional joint prostheses with polyethylene sockets because of high wear resistance and low biologic response against the wear particles of alumina. On the other hand, a ceramic/ceramic joint possibly experiences fracture, chipping or detachment. Therefore, two extremely different methods were developed to predict life and reliability of ceramic/ceramic joint prostheses. One of them uses highly conformed specimens to simulate thin film lubrication and the other employs edge/cylinder combination to simulate concentrated contact between the socket edge and the femoral head.

5. Optimal design of intracranial stents in terms of mechanical properties

Intracranial stents for intra-arterial treatment of aneurysm or sclerosis were designed by means of finite element analysis and mechanical tests. A simple and effective method to estimate stent flexibility was presented and very flexible stents optimized for brain arteries were designed.

6. Development of materials processing systems for dental prostheses

Materials processing systems, especially for metal materials, in a dental field are investigated. The purpose of this study is to reproduce the oral function by establishing production systems of dental prostheses, which have excellent biological-, medical-and morphological-compatibility

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Ikeuchi, K., Morita, Y., Nakata, K., Kim, Y. H., Sekino, T., Niihara, K. : Wear of alumina/zirconia nano-composite for ceramic/ceramic joint prostheses. Tribological Research and Design for Engineering Systems. : 257-261 (2003)

都賀谷紀宏, 北見賢司, 小田切朋和, 友西康輔, 山本吉保, 朱 可希, 森 茂光, 久保文信, 橋野利一, 中谷幸一, 平岩健介, 松永 章, 風間堅一, 塚原敏彦: 石こう系埋没材による陶材焼付け用金合金の鑄造. 歯科技工. 31 : 897-918(2003)

小田切朋和, 塚原敏彦, 平岩健介, 中谷幸一, 森 茂光, 友西康輔, 北見賢司, 橋野利一, 久保文信, 都賀谷紀宏: レジン床義歯の適合性は模型材の硬化膨張でコントロールする Part2, QDT 28 [7] : 75-81(2003)

服部耕治, 池内 健, 幅田 孝, 高倉義典: 自然再生軟骨の力学特性の検討 - 超音波を用いた新しい関節軟骨評価法の応用 - . 中部整災誌. 46 : 425-426(2003)

Hattori, K., Mori, K., Habata, T., Takakura, Y., Ikeuchi, K. : Measurement of the mechanical condition of articular cartilage with an ultrasonic probe : quantitative evaluation using wavelet transformation. Clin. Biomech. 18 : 553-7(2003)

Hattori, K., Takakura, Y., Morita, Y., Takenaka, M., Uematsu, K., Ikeuchi, K. : Can ultrasound predict histological findings in regenerated cartilage?. Rheumatology(Oxford) Oct 29(Epub ahead of print)

Hattori, K., Takakura, Y., Ishimura, M., Habata, T., Uematsu, K., Ikeuchi, K. : Quantitative arthroscopic ultrasound

evaluation of living human cartilage. Clin. Biomech. (in press)

Kuroki, H., Nakagawa, Y., Mori, K., Ikeuchi, K., Nakamura, T. : Mechanical effects of autogenous osteochondral surgical grafting procedures and instrumentation on grafts of articular cartilage. Am. J. Sports Medicine (in press)

Shibata, N., Tomita, N., Ikeuchi, K. : Gamma-irradiation aggravates stress concentration along subsurface grain boundary of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) under sliding fatigue environment. Biomed Mater Eng. **13** : 35-45 (2003)

Shibata, N., Tomita, N., Ikeuchi, K. : Microscopic destruction of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) under uniaxial tension. Biomed Mater Eng. **13** : 47-57 (2003)

Shibata, N., Tomita, N., Onmori, N., Kato, K., Ikeuchi, K. : Defect initiation at subsurface grain boundary as a precursor of delamination in ultrahigh molecular weight polyethylene. J Biomed Mater Res. **67A** : 276-284 (2003)

Morita, Y., Tomita, N., Aoki, H., Wakitani, S., Tamada, Y., Suguro, T., Ikeuchi, K. : Evaluation of dynamic visco-elastic properties during cartilage regenerating process in vitro. Biomed Mater Eng. **13**(4) : 345-353 (2003)

森田有亮, 富田直秀, 青木秀之, 園部正人, 脇谷滋之, 玉田 靖, 勝呂 徹, 池内 健 : 再生軟骨の潤滑特性 . 日本臨床バイオメカニクス学会誌 . **24** : 53-58 (2003)

Yoshida, H., Morita, Y., Ikeuchi, K. : biological lubrication of hydrated surface layer in small intestine. Tribological Research and Design for Engineering Systems. : 425-428 (2003)

吉田秀幸, 森田有亮, 池内 健 : 小腸内皮の摩擦特性 - 吸着した親水性高分子による水潤滑 - . 日本臨床バイオメカニクス学会誌 . **24** : 83-86

竹中 慎, 服部耕治, 森 浩二, 幅田 孝, 高倉義典, 森田有亮, 池内 健 : 超音波を利用した自然再生軟骨の力学特性の測定 . 日本臨床バイオメカニクス学会誌 . **24** : 59-63 (2003)

2) 著 書

池内 健 : 人工関節用ポリエチレンの摩耗試験 . 「医療材料・医療機器の安全性と生体適合性」(土屋利江編, シーエムシー出版, 東京) 59-63 (2003)

池内 健 : セラミック/セラミック人工股関節用材料の摩耗試験「医療材料・医療機器の安全性と生体適合性」(土屋利江編, シーエムシー出版, 東京) 64-67 (2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Ikeuchi, K., Morita, Y., Yoshida, H. : Lubrication of articular cartilage by surface layer of hydrated molecules. 1st International Congress on Bio-nano Interface (2003.5.19-24. Tokyo)

Ikeuchi, K., Morita, Y., Naka, M. H., Yoshida, H. : The role of hydrated surface layer in joint lubrication. International Tribology Forum Nanobali (2003.7.17-11. Indonesia)

Ikeuchi, K., Yoshida, H., Morita, Y., Naka, M. H. : Aqueous lubrication with hydrated macromolecules attaching to tissue surface. Fukuoka International Forum : Biotribology 2003 (2003.8.30. 福岡)

- 都賀谷紀宏：急速加熱型石膏系埋没材使用方法についての情報整理．第 143 回歯科鑄造研究会(2003.6.21. 京都)
- 都賀谷紀宏，北見賢司：フィラーワイヤを用いたレーザー溶接(第 1 報)Co-Cr 合金の溶接強度．第 41 回日本歯科理工学会学術講演会(2003.4.18-19. 東京)
- 都賀谷紀宏：フィラーワイヤを用いた Co-Cr 合金のレーザー溶接．第 15 回日本レーザー歯学会学術講演会(2003.11.27-28. 名古屋)
- 服部耕治，幅田 孝，上松耕太，高倉義典，竹中 慎，森 浩二，森田有亮，池内健：超音波を用いた関節軟骨の定量評価法 - 症例間，症例内での比較検討 - ．第 15 回関西関節鏡・膝研究会(2003.3.1. 大阪)
- Hattori, K., Habata, T., Uematsu, K., Takakura, Y., Takenaka, M., Mori, K., Morita, Y., Ikeuchi, K. : Evaluation of microscopic damage to articular cartilage using ultrasonic probe. SICOT/SIROT 2003 International Conference in Cairo.(2003.9.10-13. Cairo)
- 服部耕治，上松耕太，幅田 孝，高倉義典，竹中 慎，森田有亮，池内 健：超音波を用いた関節軟骨定量評価法 - 日本白色家兎を用いた，軟骨再生治療の評価 - ．第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.16-17. 北九州)
- 服部耕治，上松耕太，幅田 孝，高倉義典，竹中 慎，森田有亮，池内 健：超音波を用いた関節軟骨定量評価法 - 酵素処理モデルを用いた関節軟骨変性の評価 - ．第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.16-17. 北九州)
- 黒木裕士，中川泰彰，森 浩二，鈴木 隆，竹中 慎，水野泰行，安東慶治，池内 健，中村孝志：骨軟骨移植術の手術手技が軟骨に及ぼす力学的影響．第 28 回日本膝関節学会(2003.3.21-22. 千葉)
- Kuroki, H., Nakagawa, Y., Mori, K., Ohba, M., Takenaka, M., Suzuki, T., Ikeuchi, K., Nakamura, T. : Biomechanical and histologic change of plug cartilage in the same size model of osteochondral grafting surgery. The 8th World Congress of the Osteoarthritis Research Society International(2003.10.12-15. Berlin)
- 黒木裕士，中川泰彰，森 浩二，竹中 慎，大庭真央，鈴木 隆，池内 健，中村孝志：骨軟骨移植術における軟骨の力学的および組織学的経時変化．第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.16-17. 北九州)
- Kuroki, H., Nakagawa, Y., Mori, K., Ohba, M., Suzuki, T., Ikeuchi, K., Nakamura, T. : Biomechanical effect of autogenous osteochondral graft on articular cartilage. Proceedings of 2003 ISAKOS Congress, Presentation outlines & abstracts
- 中川泰彰，森 浩二，黒木裕士，池内 健，中村孝志：膝関節軟骨損傷部の力学的特性．第 101 回中部日本整形外科学会災害外科学会(2003.10.2-3. 浜松)
- 中川泰彰，森 浩二，鈴木隆，黒木 裕士，竹中 慎，水野 泰行，安東慶治，池内 健，中村孝志：重度内側型変形性膝関節症の力学的特性．第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.16-17. 北九州)
- Kumatani, I., Hyon, S., Hayami, T., Matsumura, K., Morita, Y., Ikeuchi, K., Sakaguchi, K., Tutumi, S. : Effects of watercontents of poly(vinyl alcohol)hydrogel as an artificial articular cartilage on damage degree of natural articular cartilage. Fukuoka International Forum : Biotribology 2003(2003.8.30. 福岡)
- 熊谷一星，玄 丞然，速水 尚，松村和明，森田有亮，池内 健，坂口一彦，堤 定美：半関節形成術用人工股関節軟骨 poly(vinyl alcohol)hydrogel のトライボロジ特性評価(第二報)．第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会(2003.11.27-28. 山口)
- Morita, Y., Tomita, N., Aoki, H., Sonobe, M., Wakitani, S., Tamada, Y., Suguro, T., Ikeuchi, K. : Frictional properties of regenerated cartilage in vitro. Fukuoka International Forum : Biotribology 2003.(2003.8.30. 福岡)

森田有亮, 富田直秀, 園部正人, 脇谷滋之, 玉田 靖, 池内 健: 再生軟骨の潤滑機構「日本機械学会 第 15 回 バイオエンジニアリング講演会」(2003.1.21-22. 大阪)

Naka, M, H., Morita, Y., Ikeuchi, K. : Study of the influence of the superficial conditions of articular cartilage during lubrication. Fukuoka International Forum : Biotribology 2003(2003.8.30. 福岡)

名嘉マルコ寛, 池内 健, 森田有亮: 関節軟骨の潤滑に及ぼす表面状態の影響に関する研究・日本トライボロジー学会トライボロジー会議 2003 秋(2003.11.11-13. 新潟)

竹中 慎, 服部耕治, 森 浩二, 幅田 孝, 高倉義典, 森田有亮, 池内 健: 超音波における関節軟骨変性の測定 - 酵素モデルを用いた検討 - 「日本機械学会 第 15 回バイオエンジニアリング講演会」(2003.1.21-22. 大阪)

竹中 慎, 服部耕治, 大橋徹夫, 森田有亮, 森 浩二, 幅田 孝, 高倉義典, 池内 健: 酵素による関節軟骨変性の超音波を用いた評価・第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会(2003.11.27-28. 山口)

岡崎友樹, 豊田一実, 鬼頭孝之, 池内 健: 磁気センサによる頭蓋内カテーテル先端の位置・姿勢の検出システム「日本機械学会 第 15 回バイオエンジニアリング講演会」(2003.1.21-22. 大阪)

吉田秀幸, 森田有亮, 服部耕治, 竹中 慎, 池内 健: 関節軟骨における親水性表面層の潤滑メカニズム「日本機械学会 第 15 回バイオエンジニアリング講演会」(2003.1.21-22. 大阪)

青木秀之, 富田直秀, 園部正人, 玉田 靖, 原田恭治, 森田有亮, 池内 健, 脇谷滋之, 勝呂 徹: 硫酸化フィブリンスポンジを用いた軟骨細胞培養第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.3.21-22. 千葉)

小島康宣, 服部耕治, 矢島弘嗣, 重松浩司, 河村健二, 高倉義典, 森田有亮, 池内 健: 薄型超音波プローブを用いた手関節軟骨定量評価・第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.3.21-22. 千葉)

Mackova, H., Morita, Y., Kim, Y., Sekino, T., Niihara, K., Ikeuchi, K. : Wear test simulating concentrated contact during relocation after microseparation in all-ceramic hip joint. Fukuoka International Forum : Biotribology 2003(2003.8.30. 福岡)

山本浩司, 森田有亮, 甲斐元崇, 池内 健, 園部正人, 玉島康優, 小泉孝之, 辻内伸好, 富田直秀: 再生軟骨の摩擦・摩耗特性・第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会(2003.11.27-28. 山口)

大橋徹夫, 服部耕治, 竹中 慎, 森田有亮, 森 浩二, 幅田 孝, 高倉義典, 池内 健: 超音波反射波解析による軟骨変性の定量評価 - 靱帯切除・半月板摘出 OA モデルを用いた実験的検証 - . 第 30 回日本臨床バイオメカニクス学会(2003.11.27-28. 山口)

2) 講演・シンポジウム

池内 健: 生物とトライボロジー「トライボロジー研究会 第 14 回講演会」(2003.1.24. 横浜)

池内 健, 富田直秀: 関節軟骨の測定と潤滑機能評価, 医療機器フォーラム設立記念シンポジウム「21 世紀の医療機器 Tissue Engineering - 開発と評価」(2003.10.25. 東京)

都賀谷紀宏: 歯科技工実習のあり方 - 最新の歯科技工技術(チタン casting, レーザー溶接)について - . 平成 15 年度歯科技工士実習施設指導者講習会(2002.6.29. 東京)

都賀谷紀宏: 研究法 - 質的研究法とクリティカルシンキング - . 平成 15 年度歯科衛生士専任講習会 (2003.8.22. 京都)

都賀谷紀宏: レーザー溶接の基礎 - 歯科レーザー溶接のしくみ - . 第 15 回日本レーザー歯学会イブニングセミナー(2003.11.27. 名古屋)



生体システム制御学分野 Department of Medical Systems Control

分野主任 教授 長澤 丘司

Prof. Takashi Nagasawa

【研究概要】

我々は、これまで炎症時に局所へ白血球を誘導する分子群として知られていた走化性因子のファミリーであるケモカインファミリーの1つ CXCL12 (SDF-1/PBSF) を B リンパ球前駆細胞の増殖を促進する分子として同定し (Nagasawa, T., et al. *PNAS* 91 : 2305-2309 (1994)), その生理的受容体が CXCR4 であり、これらの分子が、B リンパ球の生成、発生過程における骨髄への血液細胞のホーミング、心室中隔形成、胃腸管を栄養する大型の血管の形成に必須であることを見出した (Nagasawa, T., et al. *Nature* 382 : 635-638 (1996); Tachibana, K., et al. *Nature* 393 : 591-594 (1998); Egawa, T., et al. *Immunity* 15 : 323-334 (2001)). これらの研究により、CXCL12 は、発生における幹細胞または前駆細胞の細胞動態の制御に重要なサイトカインであることが示唆された。そこで、本年度は、幹細胞に焦点をあて、造血幹細胞、造血以外の幹細胞における CXCL12 の機能、作用機構の検討を中心に研究した。

(1) 胎生期の発生過程における造血幹細胞、骨髄球系細胞のダイナミックな移動における CXCL12 の作用、作用機構。

造血の場合は、胎生期、発生過程においてダイナミックに移動することが知られている。哺乳類では、大動脈などの体幹の動脈 (AGM 領域と総称される) から胎児肝に移り、末梢血管を経て、成体の造血の場である骨髄に至る。しかし、その移動制御の分子機構は長らく明らかでなかった。我々は、1996 年、CXCL12 欠損マウスの骨髄球系細胞は、胎児肝で正常で、胎児骨髄で著減していることから、CXCL12 が胎生期における血球の骨髄への移動定着に必須であることを示し、はじめてその制御因子のひとつを明らかにしたが、CXCL12 の造血幹細胞における機能は明らかでなかった。そこで、CXCL12 欠損マウス胎児の造血幹細胞数を、幹細胞の唯一の定量法である競合的造血再構成法を用いて定量した。その結果、CXCL12 欠損マウスの造血幹細胞は、正常マウスと比較して、胎児肝で著差なかったが、骨髄への定着が著明に減少しており、逆に、末梢血においては著増していた。これより、CXCL12 は、胎生期における末梢血から骨髄への造血幹細胞のホーミングに必須であることが明らかとなった。次に、トランスジェニックマウス作製技術により、CXCL12 欠損マウスの血管内皮細胞のみに CXCL12 を発現させたところ、造血幹細胞の骨髄への定着が完全に回復した。CXCL12 は、正常マウスの胎児骨髄の血管内皮細胞そのものには発現していなかったが、CXCL12 発現細胞は、血管に隣接して分布していた。以上の結果より、血管内皮周囲の CXCL12 が、発生過程における、末梢血管から骨髄への造血幹細胞のホーミングを支持することが明らかとなった。この研究は、造血幹細胞の生理的動態制御の分子機構の一つを明らかにしたと共に、CXCL12 発現細胞が、長らく謎とされている造血幹細胞ニッチである可能性を示した。

一方、CXCL12 欠損マウスの血管内皮細胞のみに CXCL12 を発現させたマウスは、造血幹細胞の骨髄への定着を回復したが、予想に反して骨髄の骨髄球系細胞をほとんど回復しなかった。そこで、骨髄球系細胞の細胞周期、CXCR4 の発現を胎児肝、末梢血、骨髄の間で比較したところ、胎児肝では多くの細胞が増殖期で、CXCR4 を高発現するのに対し、末梢血、骨髄では、増殖期の細胞は存在せず、CXCR4 の発現も弱かった。更に、CXCR4 欠損胎児肝骨髄球系細胞を正常マウスに静注したところ、野生型細胞と比較して骨髄への生着が著減していた。以

上より、胎児骨髄の造血幹細胞はホーミングしてもしばらく造血を行わず、胎児骨髄の骨髄球系細胞は、胎児肝より移動すること、この骨髄球系細胞のホーミング過程にも CXCL12 が必須であることが示された。これらの研究より、胎生期における造血の場の移動のうち、胎児肝から骨髄への移動、およびその制御機構が分子レベルではじめて明らかになった。

(2) 始原生殖細胞における CXCL12 の作用。

発生過程で組織幹細胞がダイナミックに移動する細胞種として血液細胞の他に生殖細胞が知られている。そこで、我々は、生殖細胞の組織幹細胞である始原生殖細胞の発生過程における移動を CXCL12 欠損マウスと正常マウスとの間で比較した。CXCL12 欠損マウスの始原生殖細胞は、尿膜基部での出現、腸間膜での移動において著差は認められなかったが、生殖腺へのホーミングが三分の一以下に減少していた。魚類においては、始原生殖細胞の発生過程におけるすべての移動に CXCR4 が必須であることがアメリカ、ドイツのグループより報告された。これら一連の研究より、発生過程における始原生殖細胞の移動における CXCL12, CXCR4 の機能は、魚類、哺乳類において保存されているが、哺乳類では、作用点が限局され、これらの分子への依存度が低いことが明らかとなった。

(3) T リンパ球の発生における CXCL12 の役割。

これまで、我々は、CXCL12 が B リンパ球の発生に必須で、系列決定直後の最も早期に作用することを明らかにしたが、CXCL12 の T リンパ球における機能は不明であった。CXCL12 欠損マウス胎児の詳細な解析により、CXCL12 は、T リンパ球発生における胎児胸腺への前駆細胞の移入には、関与せず、移入後 TN3 と呼ばれる分化段階以降の T 前駆細胞の増幅に関与していることが明らかとなった。この機能は、正常細胞と CXCR4 欠損細胞とを移植して作製したキメラマウスの解析により、成体胸腺においても確認された。

Chemokines are a family of small structurally related molecules that were recognized originally for their ability to regulate cell trafficking in inflammation. We isolated a chemokine, CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor/pre-B-cell growth stimulating factor (CXCL12/SDF-1/PBSF) as a molecule that stimulates the growth of B lymphocyte precursors (Nagasawa, T., et al. *PNAS* 91 : 2305-2309 (1994)) and have found its multiple physiological functions in development. We have shown that CXCL12 is essential for embryonic viability, development of B lymphocyte, colonization of bone marrow by hematopoietic cells and cardiogenesis (Nagasawa, T., et al. *Nature* 382 : 635-638 (1996)). Moreover, we have revealed that a primary physiologic receptor for CXCL12 is a seven-transmembrane G-protein-coupled receptor CXCR4 that also functions as a coreceptor for strains of HIV-1 (Nagasawa, T., et al. *Nature* 382 : 635-638 (1996); Tachibana, K., et al. *Nature* 393 : 591-594 (1998); Egawa, T., et al. *Immunity* 15 : 323-334 (2001)). In addition, we have found that CXCL12 and CXCR4 chemokine ligand receptor system is also required for vascularization of the gastrointestinal tract, that defined a new signalling system for organ vascularization during embryogenesis (Tachibana, K., et al. *Nature* 393 : 591-594 (1998)). In this year, we focused our analysis on the role of CXCL12 on hematopoietic and non-hematopoietic stem cells.

(1) Long-term Hematopoietic Stem Cells require CXCL12 for Colonizing Bone Marrow during Ontogeny.

The physiological role of CXCL12 on hematopoietic stem cells (HSCs) remains elusive. We show that colonization of bone marrow by HSCs in addition to myeloid cells is severely impaired in CXCL12^{-/-} embryos by a long-term repopulation assay. Colonization of spleen by HSCs was also affected, but to a lesser extent. Enforced expression of CXCL12 under the control of vascular-specific Tie-2 regulatory sequences could completely rescue the reduction of

HSCs but not myeloid cells in CXCL12^{-/-} bone marrow. CXCL12 was detected in the vicinity of the vascular endothelial cells in bone marrow. CXCL12 plays a critical role in colonization of bone marrow by HSCs and myeloid cells, and the mechanisms by which CXCL12 functions are distinct between HSCs and myeloid cells.

(2) Impaired colonization of the gonads by primordial germ cells in mice lacking a CXCL12.

Primordial germ cells (PGCs) are the founders of sperm or oocytes. PGCs migrate through the tissues of the embryos and colonize the gonads during development. However, the cytokines essential for colonization of the gonads by PGCs in mammals remain unclear. We have shown that PGCs have cell surface expression of CXCR4 and that, in CXCL12^{-/-} mice, PGCs undergo directed migration through tissues of embryos but the numbers of PGCs in the gonads are significantly reduced. The proliferation of PGCs within the gonads appears normal in the mutant mice. These findings reveal the essential role for CXCL12 in murine PGC development likely by controlling colonization of the gonads by PGCs.

(3) A role of CXCL12 and its receptor CXCR4 in fetal and adult T cell development in vivo.

The functions of CXCL12 and CXCR4 in T cell development are controversial. Here, we have genetically characterized further their roles in fetal and adult T cell development using mutant and chimeric mice. In CXCL12^{-/-} or CXCR4^{-/-} embryos on a C57BL/6 background, accumulation of T cell progenitors in the outer mesenchymal layer of the thymus anlage during initial colonization of the fetal thymus was comparable with that seen in wild-type embryos. However, the expansion of CD3⁻CD4⁻CD8⁻ triple-negative (TN) T cell precursors at the CD44⁻CD25⁺ and CD44⁻CD25⁻ stages, and CD4⁺CD8⁺ double-positive (DP) thymocytes was affected during embryogenesis in these mutants. In radiation chimeras competitively repopulated with CXCR4^{-/-} fetal liver cells, the reduction in donor-derived thymocytes compared with wild-type chimeras was much more severe than the reduction in donor-derived myeloid lineage cells in bone marrow. TN CD44⁺CD25⁺ T cell precursors exhibited survival response to CXCL12 in the presence of stem cell factor (SCF) as well as migratory response to CXCL12. Thus it may be that CXCL12 and CXCR4 are involved in the expansion of T cell precursors in both fetal and adult thymus in vivo. Finally, enforced expression of bcl-2 did not rescue impaired T cell development in CXCR4^{-/-} embryos, or impaired reconstitution of CXCR4^{-/-} thymocytes in competitively repopulated mice, suggesting that defects in T cell development caused by CXCR4 mutation are not due to reduced expression of bcl-2.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Ara, T., Tokoyoda, K., Sugiyama, T., Egawa, T., Kawabata, K., Nagasawa, T.: Long-term hematopoietic stem cells require stromal cell-derived factor-1 for colonizing bone marrow during ontogeny. *Immunity* **19**: 257-267 (2003) (cover photo)
- Ara, T., Nakamura, Y., Egawa, T., Sugiyama, T., Abe, K., Kishimoto, T., Matsui, Y., Nagasawa, T.: Impaired colonization of the gonads by primordial germ cells in mice lacking a chemokine, stromal cell-derived factor (SDF-1) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **100**: 5319-5323 (2003)
- Ara, T., Itoi, M., Kawabata, K., Egawa, T., Tokoyoda, K., Sugiyama, T., Fujii, N., Amagai, T., Nagasawa, T.: A role of

CXCL12/SDF-1/PBSF and its receptor CXCR4 in fetal and adult T cell development in vivo. *J. Immunol.* **170** : 4649-4655(2003)

Stumm, R., Zhou, C., Ara, T., Lazarini, F., Dubois-Dalcq, M., Nagasawa, T., Holtt, V., Schulz, S. : CXCR4 regulates interneuron migration in the developing neocortex. *J. Neurosci.* **23** : 5123-5130(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

常世田好司, 荒敏昭, 杉山立樹, 栄川健, 川端健二, 長澤丘司 : 発生過程での造血幹細胞の骨髄へのホーミングにおける SDF-1/PBSF の役割, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会(2003.12.5-7. 福岡)

荒敏昭, 栄川健, 杉山立樹, 長澤丘司 : 始原生殖細胞の発生過程での生殖腺へのホーミングにおける CXCL12/CXCR 4 の役割, 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会(2003.12.5-7. 福岡)

2) 講演・シンポジウム

長澤丘司 : ケモカインによる血球形成, 器官形成の制御, 第 38 回健康指標プロジェクト例会(2003.2.15. 京都)

長澤丘司 : 第 6 回造血器セミナー(2003.7.12. 札幌)

再生医学応用研究部門

組織再生応用分野

Department of Tissue Regeneration

分野主任 教授 戸口田 淳也

Prof. Junya Toguchida

【研究概要】

本研究分野の目標は間葉系組織，特に骨及び軟骨に関する臨床病態に対する基礎研究の展開と臨床応用に直結した治療法の開発である．現在，以下の研究が進行中である．

1．間葉系幹細胞の分化能決定因子の単離

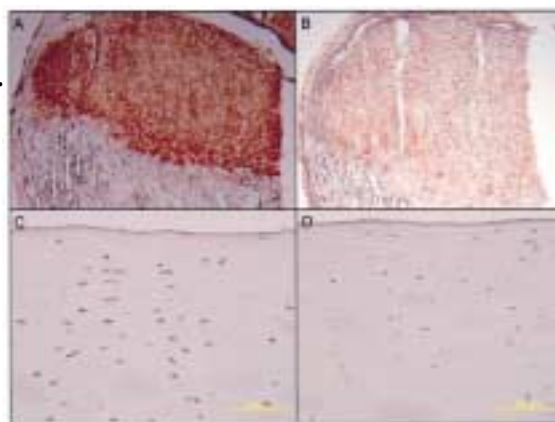
骨髄間質由来細胞中に存在する，間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell, MSC)の分化能を解析するために，テロメラーゼ複合体を構成する human telomerase reverse transcriptase(hTERT)をまず導入し，更に Rb/p16 経路の細胞周期調節による増殖阻害を克服するために，ヒトパピローマウィルス 16 型 E6 及び E7 遺伝子を導入して不死化 MSC を樹立した．この細胞系から分化能の異なるクローンを単離し，分化誘導刺激後の遺伝子発現の変化をマイクロアレイにより解析したところ，分化能の異なるクローン間では，刺激直後より異なる変動パターンを示すことが判明し，これらの中から分化能を規定する因子を同定することを試みている．

2．分化決定におけるクロマチン構造修飾の決定機構の解明

MSC から成熟間葉系細胞へ至る道筋が，どのようなものであるのかは明らかでなく，またその可塑性についても不明である．そこで軟骨特異的遺伝子であるコンドロモデュリン-I(Chondromodulin-I, ChM-I)遺伝子の骨系細胞における発現抑制機構を解析したところ，転写調節領域が広範にメチル化を受けており，特に転写因子結合部位でのメチル化の有無が発現を制御していることが判明した．ChM-I 遺伝子以外の軟骨関連遺伝子も同様な制御を受けているものがあり，骨と軟骨という類似した細胞の最終決定機構にクロマチン構造の修飾が需要であることが判明した．このように特定の分化方向に関連した遺伝子群に共通して，ヒストンアセチル化を含むクロマチン構造を決定している因子を前述した不死化 MSC のクローナルな解析により単離同定することを試みている．

3．関節軟骨再生に対するプロスタノイド受容体作動性物質の応用

関節軟骨の変性進行を防御する有効な薬剤は未だ見出されていない．我々は in situ hybridization 及び免疫組織化学的解析の結果，成人関節軟骨細胞では特定の PGE2 受容体が発現しており，選択的アゴニストによりその増殖が促進されることを見出した．現在，器官培養及び in vivo の軟骨損傷モデルにより，その治療剤としての有効性を検討している．



関節軟骨における PGE2 受容体の発現．A, B: in situ hybridization による新生マウス骨端軟骨における発現．A, antisense プローブ；B, sense プローブ．C, D: 免疫組織化学染色によるヒト成人関節軟骨における同受容体の発現．A, 特異的抗体；B, 非特異的 IgG.

(文責 戸口田淳也)

The major objects of our department are to study the molecular mechanism of growth and differentiation of mesenchymal tissue, especially bone and cartilage, and to develop new therapeutic modalities for clinical application. Following projects are currently investigated.

1. Identification of factors responsible for the differentiation to specific cell lineages.

Mesenchymal stem cells (MSC) which reside among the bone marrow-derived stromal cells, have a potential to differentiate to cells of various types. To identify the factors responsible for the differentiation to specific cell lineage, immortalized human MSCs were established by introducing the catalytic subunit of human telomerase, and then the E6 and E7 genes of type 16 human papilloma virus. One hundred clones from the parental immortalized hMSCs were isolated, which showed different differentiation potentials. Gene-expression profiles of each clone after the induction of differentiation to specific cell lineages were analyzed by the microarray, which identified several genes showing significant difference among clones.

2. Involvement of epigenetic mechanism for the regulation of differentiation

How the differentiation potential of MSC is retained during the development and lost after the final differentiation is still unknown. We analyzed the mechanisms of the transcriptional regulation of the ChM-I gene, which is one of cartilage-specific genes, in osteoblastic cells. Core-promoter region of the ChM-I gene, especially around the binding site of the main transcription factor, was extensively methylated in osteoblastic cells, and the demethylation agent can induce the expression of the ChM-I gene. Similar mechanisms were also observed in some of other cartilage-related genes, suggesting that modification of chromatin structures is an important factor to determine the differentiation. Using immortalized hMSC clones with different potentials, we are currently trying to identify the factors to determine such "differentiation-specific chromatin structure".

3. Application of agonist for the PGE2 receptors for the articular cartilage repair.

Drugs to prevent the progression of articular cartilage degeneration have not yet been identified. In situ hybridization and immunohistochemical analysis has revealed the expression of specific type of the receptor for PGE2 in adult articular chondrocytes, and the specific agonist for the receptor was found to stimulate the growth of articular chondrocytes. Therapeutic potentials of the agonist are currently investigated using the defect models in the organ culture and in vivo animal model.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Nakamata, T., Aoyama, T., Okamoto, T., Hosaka, T., Nishijo, K., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J. : In vitro demonstration of cell-to-cell interaction in growth plate cartilage using chondrocytes established from p53^{-/-} mice. *J. Bone Miner. Res.*, **18** : 97-107 (2003)

Kobayashi, M., Toguchida, J., Oka, M. : Preliminary study of polyvinyl-alcohol-hydrogel (PVA-H) artificial meniscus. *Biomaterials*, **24** : 639-47 (2003)

Kobayashi, M., Toguchida, J., Oka, M. : Development of an artificial meniscus using polyvinyl alcohol-hydrogel for early return to, and continuance of, athletic life in sportspersons with severe meniscus injury. I : mechanical

evaluation. Knee, **10** : 47-51(2003)

Kobayashi, M., Toguchida, J., Oka, M. : Development of an artificial meniscus using polyvinyl alcohol-hydrogel for early return to, and continuance of, athletic life in sportspersons with severe meniscus injury. II : animal experiments. Knee, **10** : 53(2003)

Sowers, R., Toguchida, J., Qin, J., Meyers, P. A., Healey, J. H., Huvos, A., Banerjee, D., Bertino, J. R., Gorlick, R. : mRNA expression levels of E2F transcription factors correlate with dihydrofolate reductase, reduced folate carrier, and thymidylate synthase mRNA expression in osteosarcoma. Mol. Cancer Ther. **2** : 535-541(2003)

Ushio, K., Oka, M., Hyon, S. H., Yura, S., Toguchida, J., Nakamura, T. : Partial hemiarthroplasty for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. An experimental study in the dog. J. Bone Joint Surg. Br. **85(B)** : 922-930 (2003)

Imai, T., Adachi, S., Nishijo, K., Ohgushi, M., Okada, M., Yasumi, T., Watanabe, K., Nishikomori, R., Nakayama, T., Yonehara, S., Toguchida, J., Nakahata, T. : FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells. Oncogene, **22** : 9231-9242(2003)

戸口田淳也, 長山聡, 中村祐輔 : 疾患研究の新たな展開と臨床応用 - 基礎研究は本当に臨床に還元できるのか?

1. 腫瘍 2. ゲノムからのアプローチ . 整形外科 **54** : 111-118(2003)

中山富貴, 戸口田淳也 : 悪性骨腫瘍の遺伝子診断・治療 . 関節外科 **22** : 106-109 (2003)

戸口田淳也, 長山聡, 中村祐輔 : 軟部肉腫の遺伝子発現プロファイリング . 骨・関節・靱帯 **16** : 375-378 (2003)

戸口田淳也, 岡本健, 青山朋樹 : 間葉系幹細胞の分化制御機構 : 骨・軟骨の再生を目指して . 細胞工学 **22** : 548-551 (2003)

中山富貴, 坪山直生, 戸口田淳也, 中村孝志 : 自家処理骨を使用した上腕骨悪性骨腫瘍切除後の再建 . 中部整災誌 **46** : 339-340(2003)

岡本健, 戸口田淳也, 中村孝志 : 骨・軟骨を対象とした再生医療 . 日本臨床 **61** : 432-438(2003)

2) 総説その他

戸口田淳也 : p53 のはたらき . Ortho **5** : 19-24(2003)

戸口田淳也 : 再生医療への期待と現実 . 整形外科 **54** : 1150(2003)

戸口田淳也 : 塀の上のオンコロジスト . 整形・災害外科 **46** : 1121(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

青山朋樹, 岡本健, 松崎尚志, 西庄功一, 石部達也, 安良興, 中山富貴, 中村孝志, 戸口田淳也 : p53^{-/-} マウス由来関節軟骨細胞株を用いたプロスタグランジン E₂ の関節軟骨に対する作用の解析 . 第 16 回日本軟骨代謝学会(2003.3.7. 岡山)

岡本健, 青山朋樹, 西庄功一, 安良興, 石部達也, 中山富貴, 中村孝志, 戸口田淳也, 清野透 : 不死化ヒト間葉系幹細胞株を用いた多分化能の研究 . 第 16 回日本軟骨代謝学会(2003.3.8. 岡山)

森瀬博子, 木村豪太, 中山富貴, 中村孝志, 坪山直生, 戸口田淳也, 中嶋安彬 : 痛みを主訴として大腿骨頸部 mixed tumor の 1 例 . 第 388 回京阪神整形外科集談会(2003.3.15. 大阪)

中山富貴，戸口田淳也，保坂泰介，坪山直生，中村孝志：骨軟部腫瘍における融合遺伝子解析の有用性の検討．第100回中部日本整形災害外科学会(2003.4.12. 京都)

坪山直生，戸口田淳也，中山富貴，中村孝志：術中照射を用いた患肢温存手術．第76回日本整形外科学会学術集会(2003.5.22. 金沢)

西庄功一，中山富貴，岡本健，青山朋樹，石部達也，安良興，中村孝志，戸口田淳也：p53^{-/-} 骨芽細胞から骨肉腫への形質転換関連遺伝子の検索と機能解析．第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.11. 神戸)

青山朋樹，岡本健，西庄功一，青山朋樹，石部達也，安良興，中山富貴，坪山直生，中村孝志，戸口田淳也：骨肉腫におけるコンドロモデュリン-I 遺伝子発現のエピジェネティック制御機構．第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.11. 神戸)

石部達也，中山富貴，岡本健，青山朋樹，西庄功一，安良興，中村孝志，戸口田淳也：滑膜肉腫細胞の増殖における fibroblast growth factor シグナルの関与．第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.11. 神戸)

岡本健，長山聡，青山朋樹，西庄功一，石部達也，安良興，中山富貴，中村孝志，中村祐輔，戸口田淳也：滑膜肉腫における上皮様構造形成は Wnt-Frizzled pathway により制御されている．第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.11. 神戸)

中山富貴，戸口田淳也，西庄功一，保坂泰介，坪山直生，中村孝志：骨軟部腫瘍における融合遺伝子解析の有用性．第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.12. 神戸)

今井剛，足立荘一，西庄功一，渡邊健一郎，岡田雅行，中村孝志，戸口田淳也，中畑龍俊：ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 FR901228 のヒト骨肉腫に対する抗腫瘍効果の検討．第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.12. 神戸)

岡本健，長山聡，青山朋樹，中山富貴，中村孝志，中村祐輔，戸口田淳也：滑膜肉腫においける上皮間葉転換機構の解析．第62回日本癌学会総会(2003.9.25. 名古屋)

西庄功一，中山富貴，青山朋樹，岡本健，石部達也，安良興，嶋靖子，柴田弘太郎，中村孝志，戸口田淳也：p53 欠損骨芽細胞の形質転換過程における遺伝子発現変化の解析．第62回日本癌学会総会(2003.9.25. 名古屋)

石部達也，中山富貴，岡本健，青山朋樹，西庄功一，安良興，中村孝志，長山聡，戸口田淳也：滑膜肉腫における FGF シグナルの関与．第62回日本癌学会総会(2003.9.25. 名古屋)

長山聡，片桐豊雅，戸口田淳也，中村祐輔：滑膜肉腫に対する新規抗体療法の候補標的遺伝子，FZD10．第62回日本癌学会総会(2003.9.25. 名古屋)

青山朋樹，岡本健，西庄功一，石部達也，安良興，柴田弘太郎，嶋靖子，長山聡，中山富貴，中村孝志，戸口田淳也：骨肉腫におけるコンドロモデュリン-I 遺伝子発現のエピジェネティック制御機構．第62回日本癌学会総会(2003.9.27. 名古屋)

今井剛，足立壯一，西庄功一，岡田雅行，渡邊健一郎，中山富貴，戸口田淳也，米原伸，中畑龍俊：ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 FR901228 のヒト骨肉腫細胞株に対する in vitro および in vivo における抗腫瘍効果．第62回日本癌学会総会(2003.9.27. 名古屋)

佐野禎一，中山富貴，坪山直生，戸口田淳也，中村孝志：骨肉腫に対する人工膝関節置換術の成績．第101回中部日本整形災害外科学会(2003.10.2. 浜松)．

青山朋樹，岡本健，松崎尚志，西庄功一，石部達也，安良興，中山富貴，中村孝志，戸口田淳也：p53^{-/-} 由来関節軟骨細胞株を用いたプロスタグランジン E2 の関節軟骨に対する作用の解析．第18回日本整形外科学会基

礎学術集会(2003.10.17. 北九州)

岡本健, 長山聡, 青山朋樹, 西庄功一, 石部達也, 安良興, 中山富貴, 中村孝志, 中村祐輔, 戸口田淳也: 滑膜肉腫における上皮間葉転換機構の解析. 第18回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.17. 北九州)

戸口田淳也: 骨肉腫の癌抑制遺伝子 41 日本癌治療学会総会(2003.10.22. 札幌)

Yasura, Ko., Aoyama, T., Okamoto, K., Nishijo, K., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J.: Mutation analyses of PTHrPR gene in chondrosarcomas and enchondromas. 9th CTOS(2003.11.7. Barcelona)

Aoyama, T., Okamoto, K., Nagayama, S., Nishijo, K., Ishibe, T., Yasura, Ko, Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J.: Epigenetic regulation of the expression of chondromodulin-I gene in osteogenic cells. 9th CTOS(2003.11.7. Barcelona)

Okamoto, K., Nagayama, S., Aoyama, T., Nishijo, K., Ishibe, T., Yasura, Ko, Nakayama, T., Nakamura, Y., Nakamura, T., Toguchida, J.: SYT-SSX fusion gene in synovial sarcomas: identification and characterization of down-stream genes involved in tumorigenesis. 9th CTOS(2003.11.7. Barcelona)

柴田弘太郎ロパーツ, 岡本健, 青山朋樹, 安良興, 中村孝志, 戸口田淳也: p16 遺伝子不活化による間葉系幹細胞の不死化. 第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26. 京都)

青山朋樹, 岡本健, 西庄功一, 石部達也, 安良興, 柴田弘太郎, 嶋靖子, 中山富貴, 中村孝志, 長山聡, 戸口田淳也: 骨肉腫におけるコンドロモデュリン-I 遺伝子発現のエピジェネティック制御機構. 第26回日本分子生物学会年会(2003.12.10. 神戸)

岡本健, 青山朋樹, 西庄功一, 石部達也, 長山聡, 中山富貴, 中村孝志, 中村祐輔, 戸口田淳也: 滑膜肉腫細胞株を用いた上皮間葉転換機構の解析. 第26回日本分子生物学会年会(2003.12.11. 神戸)

任鮮英, 加藤基伸, 岡本健, 戸口田淳也, 押村光雄: 新規 HAC ベクター系の構築: 間葉系幹細胞の遺伝子再生医療への応用を目指した基礎的検討. 第26回日本分子生物学会年会(2003.12.11. 神戸)

2) 講演・シンポジウム

戸口田淳也: 骨軟部腫瘍: 治療法の基本的考え方. 第1回関西医科大学整形外科春期セミナー(2003.5.17. 守口)

戸口田淳也: 遺伝子発現プロファイリングによる軟部肉腫の分類と治療への応用. 第2回 Molecular Target Therapy 研究会(2003.5.31. 京都)

戸口田淳也: 骨軟部腫瘍の研究: 夢と現実. 第20回近畿肉腫研究会(2003.6.21. 京都)

戸口田淳也: 骨軟部腫瘍における遺伝子解析の現状と展望. 第36回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2003.7.11. 神戸)

戸口田淳也: 骨軟部腫瘍の診断・治療の現状と最近の話題. 第138回大阪臨床整形外科医会研修会(2003.7.16. 大阪)

戸口田淳也: 間葉系幹細胞の増殖分化制御機構. 第25回骨・カルシウム代謝研究会(2003.9.19. 京都)

戸口田淳也: 間葉系腫瘍と組織再生の接点. 第253回 MOQ(2003.9.22. 福岡)

戸口田淳也: 患肢温存治療へ向けた再生医学の展望. 第18回日本整形外科学会基礎学術集会(2003.10.17. 北九州)

戸口田淳也: 市民公開シンポジウム 細胞移植と再生医療 - 細胞の移植(2003.12.17. 大阪)



器官形成応用分野

Department of Organ Reconstruction

助教授 角 昭一郎

Assoc. Prof. Shoichiro Sumi

【研究概要】

本分野では、膵 Langerhans 島(膵島)の再生医療を中心的な研究テーマとしており、世界中の多くの糖尿病患者さんに安心して受けていただける膵島再生医療を目指して研究を行っている。我が国の重症糖尿病治療は依然としてインスリン療法に依存している。欧米では膵臓移植や Edmonton protocol に準じた分離膵島の移植も積極的に行われている。しかし、我が国では、膵臓移植がようやく緒に就いたところで、膵臓移植は臓器移植法制定以降に 12 例(2003 年末)、膵島移植は 2003 年秋に移植用の膵島分離の本邦第 1 例目が行われたが実際の移植は未だ実施に至っていない。これらの移植医療は、重症糖尿病やその合併症に対処する有効な治療法ではあるが、移植医療に共通するドナー不足と永続的な免疫抑制療法の問題は避けられない。

このような問題の解決をめざして行われている膵島再生医療の研究には幾つかのアプローチがある。インスリン産生細胞をどこに求めるかによって、最も直接的に自己の膵臓で膵島再生を促進する方法、自己あるいは他者の組織幹細胞あるいは胎性幹(ES)細胞から膵島あるいは膵島様細胞塊を分化誘導して移植する方法、さらに、ヒト以外の異種動物の膵島を分離して利用する方法などが研究されている。また、対象疾患が自己免疫の関与する 1 型(インスリン依存性)糖尿病であることや、他人あるいは異種の膵島を用いる点から、膵島や膵島様細胞塊を各種の半透膜で包んで免疫から隔離するバイオ人工膵島の開発と臨床応用へのアプローチが当分野の最大の研究課題である。

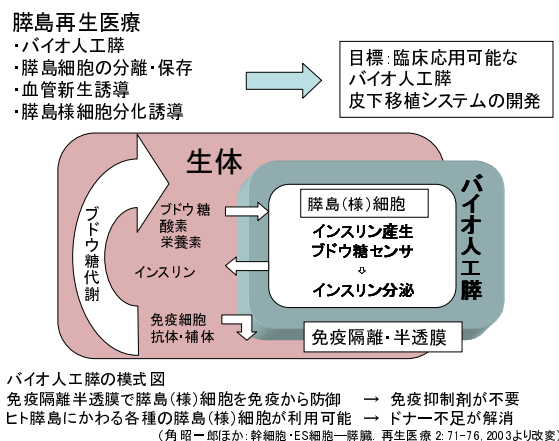
当分野では、膵切除後などに起こる膵島再生の機構とそれを助長するための方法を探る目的で、マウスの膵切除モデルや糖尿病モデルを用いて膵再生に関与する因子や細胞の解析をおこなっている。

幹細胞からの分化誘導では、マウス ES 細胞を用いた研究を行っている。ES 細胞から embryoid body(胚様体)を形成させると、ある程度の量のインスリンが自然に産生されるが、糖尿病治療に使用可能な十分量のインスリン産生やブドウ糖に対する良好な反応性を獲得するには、膵臓での膵島本来の分化過程を経なければならない可能性がある。我々はインスリンだけでなく、その他の膵ホルモンを産生し、さらに、RT-PCR でアミラーゼなど膵臓の外分泌細胞に特異的な酵素も発現している膵島様細胞塊を分化誘導し、これを移植することで糖尿病マウスの高血糖を是正することに成功した。現在はマイクロアレイを用いて分化過程における遺伝子発現の変化の詳細を解析中である。また、培養条件を変えることで神経細胞等への分化誘導を試みている。

当分野では、従来からブタやイヌなど大動物の膵島分離に取り組んでおり、最近では、従来用いていたラット膵島に代わって、ブタ膵内分泌細胞の分離法を確立し、これを用いたバイオ人工膵を研究している。アガロースと抗補体作用を有するポリスチレンスルホン酸の混合ゲルにブタ膵内分泌細胞を包埋して棒型バイオ人工膵を作製し、あらかじめ血管誘導処置を施したストレプトゾトシン(STZ)糖尿病マウスの皮下に異種移植することで、長期の血糖正常化を得ている。臨床応用を考慮した場合、皮下は最も好ましい移植部位であるが、皮下組織は血流に乏しく移植片の着生にとっては条件が悪い。このため、当分野では皮下等への血管誘導技術も開発しており、この実験では、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を含浸させたゼラチン粒子を注入する方法を用いた。さらに、ヒトへの応用を目指して、生体適合性に優れた高い安全面を有するポリビニルアルコール(PVA)を用いた、全く新しいバイオ人

工膵マクロデバイスの作製方法を開発し、小動物での異種膵島移植に応用できる事を示すとともに、この移植が血糖コントロールのみならず糖尿病性腎症の進展防止にも有効であることを示している。現在は、免疫隔離能など新型デバイスの機能の詳細を検討するとともに、ブタ膵内分泌細胞のマクロデバイスを作製してイヌの糖尿病治療実験を推進中である。

その他の関連領域として、血管新生の研究では、この技術を改良して虚血組織への血管誘導の実験を行っているほか、従来必ずしも有用なモデルが得られていないラットにおける虚血下肢モデルを独自に作製し、血管新生の実験に应用中である。また、将来的な膵島細胞の長距離輸送に応用する目的で、膵島の冷保存の研究なども進行中である。さらに、2003年度からは、京都大学細胞・生体シミュレーションプロジェクトに参画して、全身糖代謝シミュレータの構築を目指して研究中である。



The major object of our research is development of regenerative medicine for diabetes mellitus, by which many patients suffering from diabetes mellitus in the world can be cured with ease. In Japan, therapy for severe diabetes mellitus still depends mostly on insulin injection. In western countries, an increasing number of patients are treated by pancreas organ transplantation and islet transplantation according to recently developed Edmonton Protocol. On the other hand, in Japan only 12 cases have been treated by pancreas organ transplantation since the enforcement of the transplantation law in 1997 and no case has been treated by islet transplantation although a case of islet isolation for clinical use was performed in September 2003. These transplantation therapies offer a cure of diabetes and diabetic complications. However, donor shortage and complications due to immunosuppressive therapy are inevitable problems as long as allo-transplantation of human organs is employed.

Regenerative medicine of pancreatic islets is studied in order to solve these problems through several different approaches according to the origin of insulin-secreting cells; enhancement of patient's own islet regeneration, auto-or allo-transplantation of islet-like cell clusters (ICCs) differentiated from embryonic or somatic stem cells in vitro and xeno-transplantation of islets isolated from the pancreas of animals such as pigs. In addition to the cell sources, development of bio-artificial pancreas, in which islet cells are encapsulated by several kinds of semipermeable membrane and protected from host immune responses, is another and our most important approach for cure of diabetes mellitus, because of autoimmune reaction as the cause of severe diabetes mellitus in a majority of cases in one hand and potential use of allo-and xeno-geneic cells for the therapy in another hand.

We are studying factors and cells that are relevant to islet regeneration in murine models of pancreatectomy, searching for methods to enhance islet regeneration. We are also studying differentiation of mouse embryonic stem (ES) cells to ICCs. Embryoid body formed from ES cells can produce certain amount of insulin without any special treatment. However, ICCs that contain an enough amount of insulin and appropriate responsibility to glucose for therapeutic use may be obtained only if the ES cells differentiate in the similar way as normal islet cells do. We induced differentiation of mouse ES cell to ICCs that express pancreatic exocrine markers and islet hormones as well as insulin. The ICCs could ameliorate hyperglycemia when they were transplanted to streptozotocine (STZ) induced diabetic

mice for a few weeks. Recently, analysis of gene expression by micro-array technique is underway. Differentiation of another cell types such as neuron-like cells is also an objective of this series of study.

We have been working on islet isolation from large animals such as pigs and dogs. Recently, we mainly use porcine endocrine cells, instead of rat islets, in the studies of bio-artificial pancreas. We have shown that subcutaneous xeno-transplantation of porcine islets macro-encapsulated in mixed gel of agarose and polystyrene sulphonic acid, an anti-complement compound, could achieve lasting normoglycemia in STZ-diabetic mice, if the subcutaneous transplantation site was prepared by neovascularization treatment. Apparently, subcutaneous site is the best one for potentially clinical transplantation of bio-artificial pancreas. However, the subcutaneous site is not the best site for the graft because of its poor vascularity. Therefore, we are also studying a methods to induce neovascularization of subcutaneous site. In the aforementioned experiment of xeno-transplantation, we used basic FGF-impregnated gelatin microspheres that induce neovascularization. In addition, we are developing a novel device made by poly-vinyl alcohol (PVA) that is highly bio-compatible and accepted as a safer material for clinical use. We have confirmed that this novel device can efficiently control hyperglycemia and can prevent diabetic nephropathy at least to some extent in a murine model. Now, we are analyzing the details of immuno-protection of this device and trying to normalize hyperglycemia in totally pancreatectomized dogs with this novel macro-device made of PVA.

We are also doing other related researches. For example, we are studying several methods to induce neovascularization to ischemic tissues, developing novel methods to make ischemic lower limb model in rats and studying novel cold preservation methods of isolated islets for potential use of islet shipping. In addition, we have recently started a study to establish a simulator of systemic glucose metabolism as one of the members of the bio-simulation project, Kyoto University.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- 角 昭一郎, 日裏彰人, 井上一知: 再生医学を応用した創傷治療法. Surgery Frontier 10: 162-165(2003)
- 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: 免疫隔離膜. Surgery Frontier 10: 279-281(2003)
- 角昭一郎, 顧 元駿, 日裏彰人, 井上一知: 再生医療と DDS. 血液・免疫・腫瘍 8: 168-171(2003)
- 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: 糖尿病における再生医療の最前線. Medical Practice 20: 802-803(2003)
- 角 昭一郎, 日裏彰人, 顧 元駿, 井上一知: 再生医療の膵島移植への応用. 移植 35: 133-136, 2003
- 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: 膵再生医療の現状と展望. 内分泌・糖尿病科. 16: 399-406(2003)
- 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: 再生医療の定義と種類. Clin Neurosci 21: 1106-1110(2003)
- 沖田 極, 日裏彰人, 杉山俊博, 吉川正英: 肝幹細胞研究の現状. 肝胆膵 46, 395-406(2003)
- 角 昭一郎, 日裏彰人, 井上一知: 糖尿病性腎症に対する膵島移植 これからの問題点など. 腎と透析 55: 617-620(2003)
- Wang W. J., Gu Y. J., Hori H., Sakurai T., Hiura A., Sumi S., Inoue K.: Subcutaneous transplantation of macroencapsulated porcine pancreatic endocrine cells normalizes hyperglycemia in diabetic mice. Transplantation 76: 290-296(2003)

- Watanabe H., Sumi S., Xu G., Kitamura Y., Nio Y., Higami T., Funakoshi A. : Studies on hypertrophic effect of 90% partial pancreatectomy on the stomach in rats. *Pancreas*. **26** : 43-47(2003)
- Nio Y., Yamasawa K., Yamaguchi K., Itakura M., Omori H., Koike M., Kitamura Y., Tsuji M., Endo S., Ogo Y., Yano S., Sumi S. : Problems in the N-classification of the new 1997 UICC TNM stage classification for gastric cancer : an analysis of over 10 years' outcome of Japanese patients. *Anticancer Res.* **23** : 697-705(2003)
- Sakurai S., Satake A., Nagata N., Gu Y. J., Hiura A., Kim D. H., Hori H., Tabata Y., Sumi S., Inoue K. : The development of new immunoisulatory devices possessing the ability to induce neovascularization. *Cell Transplantation* **12** : 527-535(2003)
- Kim D. H., Ishii M., Fujimiya M., Qi M. G., Nakamura N., Yoshikawa T., Sumi S., Inoue K. : In Vivo Functioning and Transplantable Mature Pancreatic Islet-Like Cell Clusters Differentiated from Embryonic Stem Cell. *Pancreas* **27** : e34-e41(2003)
- Watanabe H., Sumi S., Kitamura Y., Nio Y., Higami T. : Immunohistochemical analysis of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor, and their receptors, in transplanted islets in rats. *Surg Today* **33** : 854-860 (2003)
- Balamurugan A. N., Gu Y. J., Tabata Y., Miyamoto M., Cui W.X., Hori H., Satake A., Nagata N., Wang W. J., Inoue K. : Bioartificial pancreas transplantation at prevascularized intermuscular space : Effect of angiogenesis induction on islet survival. *Pancreas* **26** : 279-285(2003)
- Sakurai T., Satake A., Sumi S., Inoue K., Miyakoshi J. : Extremely low frequency magnetic field affects insulin secretion from insulinoma cell line, RIN-m. BBRC(in press)
- Balamurugan A. N., Gu Y. J., Tabata Y., Miyamoto M., Wang W. J., Inoue K. : Isolation, culture and functional characteristics of "diabetic islets". *Pancreas*(in press)
- Balamurugan A. N., Inoue K. : Effect of hepatocyte growth factor(HGF) on adult islet function in vitro. *Pancreas*(in press)

日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知 : 高齢者の肝胆膵疾患の進歩 . 老年消化器病 15(印刷中)

2) 著 書

- 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知 : 再生膵島細胞移植 . 「先端医療シリーズ 25 肝胆膵 肝・胆・膵疾患の最新医療」 (戸田剛太郎ほか編, 先端医療技術研究所, 東京)p103-109(2003)
- 角 昭一郎, 井上一知 . 膵移植 現状と展望 . 「Annual Review 2003 消化器」.(戸田剛太郎ほか編, 中外医療社, 東京)p68-73(2003)
- 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知 : 再生医療による糖尿病治療 現状と将来への展望 . 「糖尿病学 2003」(岡芳知, 谷澤幸生編, 診断と治療社, 東京)p89-103(2003)
- 日裏彰人, 井上一知 : ホルモンの事典 『セクレチン, VIP/PHI, CCK』(株朝倉書店編集部, 東京)(印刷中)
- 角 昭一郎, 井上一知 : 人工膵臓 . 新改訂・表面科学 基礎と応用 . 5 編人工生体材料の設計・作製および評価 . エヌ・ティー・エス (in press)
- 角 昭一郎 : 膵嚢胞, 膵癌 . 「今日の治療指針 2004」(山口徹ほか編, 医学書院, 東京)p403-405(2004)

3) 総説

角 昭一郎, 顧 元駿, 日裏彰人, 井上一知: 総説 幹細胞・ES細胞 膵臓・再生医療 2: 71-76(2003)

日裏 彰人, 井上一知: 糖尿病における移植・再生医療の展望. 内科 91: 128-129(2003)

井上一知, 日裏 彰人, 角 昭一郎: 再生医療研究開発の歩みと将来への展望. 日本臨床 61: 363-369(2003)

井上一知: 膵島再生医療の現状と展望. 日本人工臓器学会 32: 37-45(2003)

曹 誼林, 劉 偉(訳責)角 昭一郎, 顧 元駿, 井上一知: 中国における再生医療の現状と展望. 再生医療 2: 123-126(2003)

金 度勳, 顧 元駿, 井上一知: 幹細胞と糖尿病治療「細胞(ニューサイエンス)企画 井上一知」印刷中)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Kim D. H., Inden M., Gu Y. J., Wu W. O., Kondo J., Tsuchiya D., Taniguchi T., Kitamura Y., Sawada H., Hiura A., Sumi S., Shimohara S., Akaike A., Inoue K.: Differentiation of functional dopaminergic neurons from embryonic stem cell for therapy of Parkinson disease. 第2回日本再生医療学会総会(2003.3.11. 神戸)

奇梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 白水泰昌, 坂田直昭, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: カプセル膵島作製法に関する研究. 第2回日本再生医療学会総会(2003.3.11. 神戸)

Kim D. H., Gu Y. J., Wu W. O., Hiura A., Sumi S., Inoue K.: Differentiation of cardiac muscle cells from embryonic stem cell in vitro. 第2回日本再生医療学会総会(2003.3.11. 神戸)

白水泰昌, 顧 元駿, 奇梅日更, 坂田直昭, 金 度勳, 佐竹 晃, 櫻井智徳, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: UW solution を用いたラット膵島の冷保存後の viability の比較検討. 第30回膵膵島移植研究会(2003.3.15. 神戸)

奇梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 白水泰昌, 坂田直昭, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: PVA を用いたシートタイプカプセル化ラット膵島の in vitro における機能評価. 第30回膵膵島移植研究会(2003.3.15. 神戸)

角 昭一郎, 井上一知: パネル 21 世紀における再生医学の位置づけ: 成長因子と再生医学. 第26回医学会総会(2003.4.6. 福岡)

奇梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 白水泰昌, 坂田直昭, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: PVA を用いたシートタイプカプセル化膵島作製法に関する研究. 第46回日本糖尿病学会年次学術集会(2003.5.22. 富山)

白水泰昌, 顧 元駿, 奇梅日更, 坂田直昭, 金 度勳, 佐竹 晃, 櫻井智徳, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: ラット膵島の冷保存後の viability の比較検討. 第46回日本糖尿病学会年次学術集会(2003.5.22. 富山)

日裏彰人, 角昭一郎, 井上一知: 膵島再生医療の現状と展望. 第48回日本透析医学会年次学術集会・総会(2003.6.21. 大阪)

坂田直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本ちづる, 角 昭一郎, 砂村眞琴, 松野正紀, 井上一知: カプセル化人工膵島移植は糖尿病性腎症を予防できるか. 第34回日本膵臓学会大会(2003.7.11. 千葉)

白水泰昌, 顧 元駿, 奇梅日更, 坂田直昭, 金 度勳, 佐竹 晃, 櫻井智徳, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: ラット膵島の冷保存後の viability の比較検討. 第34回日本膵臓学会(2003.7.11. 千葉)

坂田直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本ちづる, 角 昭一郎, 砂村眞琴, 松野正紀, 井上一知: 糖尿病マウスの腎機能と生存期間に対するカプセル化異種膵島移植の効果に関する検討. 第18回日本糖尿病合併症学会(2003.10.10. 京都)

白水泰昌, 顧 元駿, 櫻井智徳, 古賀まり, 奇梅日更, 坂田直昭, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: ラット膵島の冷保存後の viability の比較検討. 第 46 回日本移植学会(2003.10.27. 大阪)

坂田直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本ちづる, 角 昭一郎, 砂村眞琴, 松野正紀, 井上一知: カプセル化人工膵島移植の糖尿病性腎症に対する効果. 第 39 回日本移植学会総会(2003.10.27. 大阪)

Kim D. H., Inden M., Gu Y. J., Kitamura Y., Sumi S., Inoue K., Shimohara S.: Induction of dopamine neurons from embryonic stem cells for Parkinson's disease. 7th International Xenotransplantation Congress 2003(2003.10.1. Glasgow)

Sakata N., Gu Y. J., Qi M.G., Yamamoto C., Sumi S., Inoue K.: Can bio-artificial pancreas prevent diabetic nephropathy? -an experiment of islet xenotransplantation in mice-. American Pancreatic Association 2003 (2003.11.6. Chicago)

2) 講演・シンポジウム

井上一知: 再生医学, 「第 65 回獣医麻酔外科学会・第 31 回日本比較臨床医学会」(特別講演)(2003.1.11. 山口)

井上一知: 再生医療の現状と展望, 「大阪府医師会学術講演会」(特別講演)(2003.1.16. 大阪)

井上一知: 再生医療の現状と展望, 「第 7 回栃木県外科侵襲研究」(特別講演)(2003.1.30. 宇都宮)

井上一知: 膵再生医療の現状と展望「第 37 回東北膵臓研究会」(特別講演)(2003.2.14. 仙台)

井上一知: 再生医療 - 現状と展望, 「滋賀消化器研究会第 50 回学術講演会」(特別講演)(2003.2.22. 草津)

井上一知: 膵島再生医療の現況と展望, 「第 33 回九州膵研究会・特別講演」(2003.6. 福岡)

井上一知: 糖尿病における膵 β 細胞の再生医学, 「第 4 回糖尿病と Vascular Biology 研究会」(特別講演)(2003.3.8. 東京)

臓器再建応用分野 Department of Bioartificial Organs

分野主任 教授 清水 慶彦

Prof. Yasuhiko Shimizu

【研究概要】

臓器再建応用分野の研究目的は、全身のあらゆる組織、臓器を対象とした再生医療により人間の幸福に貢献することにあります。そのため、自己の細胞が増殖、分化できる足場となる適切な環境を体内に与えることによって、自己の臓器が本来の構造と機能を取り戻して再生復元するようにする手法を開発しています。

これによって、現在治療法がない難病患者、人工臓器で延命中の患者、或いは移植ドナーの不足のために死亡している症例の多くが救われます。また、高騰を続ける医療費が激減することが予想されます。

研究の方法としては、再生医学の 3 つの柱である(1)足場、(2)細胞、(3)増殖・成長因子、を生体内で働かせる in situ Tissue Engineering という方法を独自に開発してそれを進めています。すなわち、同種・異種の臓器や組織が

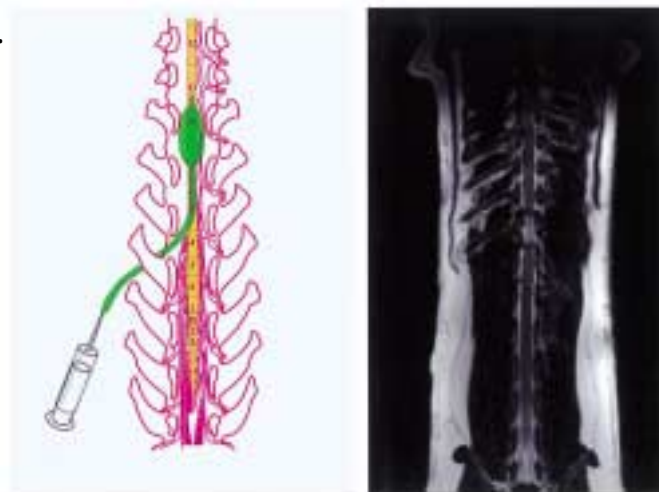
ら酵素で分解・抽出して完全に免疫原性をなくしたコラーゲンから再構成した細胞外マトリックス、或いは Detergent で細胞を完全に除去した細胞外マトリックス、生体内で穏和に分解吸収される合成高分子、各種の細胞の増殖成長因子などの材料 DDS(薬物送達システム)を組み合わせて、欠落した組織や臓器の再生する足場となる枠組み(細胞外マトリックス)を生体内に作ります。この枠組みを足場として利用して、生体内の幹細胞が増殖、分化し、自己の組織や臓器が再生復元されます。また、幹細胞の分離・増殖を行い組織再生に用いる研究や瘢痕状になった細胞外マトリックスを融かして、再び本来の細胞外マトリックスに戻す研究も進めています。

現在行っている研究内容は下記のように分類されます。

- ① 角膜、心膜、胸膜、腹膜、脳硬膜などの膜系
- ② 血管、気管、喉頭、消化管などの管状臓器
- ③ 外力の加わる組織(顎骨、永久歯、歯根膜)
- ④ 末梢神経、脊髄などの中枢神経系
- ⑤ 泌尿器系
- ⑥ 肺臓、肝臓、甲状腺、上皮小体、脾臓などの実質性代謝臓器

- ⑦ 脂肪組織や筋肉組織や、その他軟組織

- ⑧ この他に人工臓器の開発や造影剤の研究、バイオマテリアルの研究



大型動物において脊椎と脊椎の間にある椎間孔よりバルーンカテーテルを脊椎管に挿入し膨らませることによって、脊椎には傷をつけずに脊髄損傷モデルを作ることができた。右図は冠状断の T2 強調 MR 画像。

当分野の研究は、細胞が増殖、再分化して、元の臓器を復元させる仕組み(環境)を人工的に体の中に作れば、哺乳動物の臓器や組織もいもりのように再生復元するというメカニズムを医学に応用するものです。このような in situ Tissue Engineering は世界に先駆けて我々が提唱してきた方法で既に人工気管や人工神経など臨床に応用されているものもあり、21 世紀の医療の中心的柱になると考えられます。

In situ Tissue Engineering: We have devised a completely new approach to the development of artificial organs. The main procedure using tissue engineering for tissues and internal organs involves the removal of the cell component from auto-or allo-organs to obtain only the extracellular matrix, so-called refined extracellular matrix (ECM) and reconstitutes the solid structure from the extracted collagen. This ECM or reconstituted structure is then employed as scaffolding, which after implantation into the patients is used for the regeneration or re-differentiation of tissue. Organs made of self-cells thus regenerate. Organs that regenerate in this manner not only possess highly differentiated tissue structures, but also show functional recovery, because all the cells are derived from the patients themselves. Whether or not our new method is practicable will depend mainly on the intrinsic regeneration capacity of each tissue. Up to now, in higher mammals including man, it has been believed that highly differentiated organs lose their ability to regenerate. We consider that mammals do not, in fact, lose this potential, and that the potential is hidden by excessively rapid wound healing around the failing tissues. In this sense, if we can provide good conditions using refined ECM, we can induce this hidden potential even in higher mammals. We have already carried out successful trials at regenerating peripheral nerves, the esophagus, the trachea, and blood vessels with this method. A similar method is also applicable to other soft tissue organs such as the liver, heart, and lung, as well as the spinal cord. These

results will be welcomed by patients who are dependent on palliative life-support systems, or transplantation candidates who are waiting for suitable donors. An additional benefit is that patients will be freed from the side effects of immunosuppressive drugs. The judgment of the brain death can then be discussed separately from the issue of transplantation, and will become a personal problem. Further more, this new approach help to reduce ever-expanding medical costs, which are in danger of destroying our health insurance system in the near future.

No study based on these concepts has ever been done either in Japan or abroad. In this sense, our pioneering work is expected to be a major area of medical science for the coming generation.

Strategy and targets of our study

The target organs currently being considered for this development project are the heart, heart valves, esophagus, stomach, intestine, gallbladder, trachea, lung, liver, kidney, peripheral nerves, spinal cord, cornea, tendons, ligaments, cartilage, bone, fatty tissue, periodontal tissue, and permanent teeth. We plan to employ the two major methods as described below.

ECM Method

To obtain the purified extracellular matrix, cell components are completely removed from homo or allo-organs. The solid structure is reconstituted from the ECM and extracted collagen. Growth factors are then applied to facilitate cell proliferation. Then this ECM-collagen-growth factor composite is implanted into the living body as a temporary scaffolding for new organ regeneration. Besides this, bioabsorbable materials will also be applied instead of purified ECM as a bulk structure for organ regeneration. Both extracted collagen and growth factors are should facilitate cell proliferation and cell redifferentiation, leading to regeneration of organs completely composed of cells derived from patients.

Cell+ECM Method

Cells (or living tissues) of patients are complexed (mixed) with purified ECM or bioabsorbable material. Using this complex, reconstruction of the failing tissues or organs will be attempted. Mesenchymal stem cell (MSC) obtained from the bone marrow is now applied to this method.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

清水慶彦：組織工学による再生医学．The Lung perspectives. 11：51-54(2003)

清水慶彦：再生医療の成り立ちとそのさまざまな方法．日本医師会雑誌．129：299-302(2003)

清水慶彦：再生医学の現状と展望 - 再生医学の歯科への取り組み - ．日本歯科医学会誌．22：82-85(2003)

清水慶彦：再生医学のトピックスとその気管食道領域への応用．日本気管食道科学会会報．54：59-63(2003)

中村達雄，茂野啓示，小出 馨：どうなる - 2013 年の再生医療と歯科補綴 - 歯科技工．31：59-65(2003)

中村達雄：呼吸器疾患の再生医療．日本医師会雑誌．129：369-372(2003)

Nakamura, T. : Clinical application of nerve conduits consisting of a polyglycolic acid (PGA) collagen composite tube filled with collagen sponge. Connective Tissue. 35：53-57(2003)

中村達雄：再生医療の技術的側面・Tissue Engineering.CLINICAL NEUROSCIENCE. 21：1141-1145(2003)

- Ito, T., Nakamura, T., Takagi, T., Toba, T., Hagiwara, A., Yamagishi, H., Shimizu, Y. : Biodegradation of Polyglycolic Acid-Collagen Composite Tubes for nerve Guide in the Peritoneal Cavity. *ASAIO Journal*. **49** : 417-21(2003)
- Ito, T., Nakamura, T., Suzuki, K., Takagi, T., Toba, T., Hagiwara, A., Kihara, K., Miki, T., Yamagishi, H., Shimizu, Y. : Regeneration of hypogastric nerve using a polyglycolic acid(PGA)collagen nerve conduit filled with collagen sponge proved electrophysiologically in a canine model. *Int J Artif Organs*. **26** : 245-51(2003)
- 伊藤忠雄, 中村達雄, 高木 剛, 萩原明於, 山岸久一, 清水慶彦 : 人工神経ガイドチューブの腹腔内における分解・吸収性に関する検討 . *日本炎症・再生医学会雑誌* . **23** : 275-278(2003)
- 稲田有史, 橋爪圭司, 諸井慶七郎, 岩田敏男, 古家 仁, 清水慶彦, 中村達雄 : Causalgia(CRPS Type II)の外科的治療 - Polyglycolic-acid Collagen(PGA-C)tube による生体内再生治療 - . *PAIN RESEARCH(日本疼痛学会誌)*. **18** : 25(2003)
- Ueda, H., Nakamura, T., Yamamoto, M., Nagata, N., Fukuda, S., Tabata, Y., Shimizu, Y. : Repairing of rabbit skull defect by dehydrothermally crosslinked collagen sponges incorporating transforming growth factor β 1. *Journal of Controlled Release*. **88** : 55-64(2003)
- Ueda, H., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y. : Repairing of rabbit skull defect by TGF- β 1-incorporated collagen sponges of different thickness. *Journal of Biomedical Engineering*. **15** : 1-7(2003)
- Ueda, H., Tabata, Y. : Polyhydroxyalkanoate derivatives in current clinical applications and trials. *Advanced Drug Delivery Review*. **55** : 501-18(2003)
- Okamoto, T., Yamamoto, Y., Gotoh, M., Liu, D., Kihara, M., Kameyama, K., Hayashi, E., Nakamura, K., Yamauchi, A., Huang, C., Yokomise, H., Yamamoto, M., Nakamura, T., Shimizu, Y., Tabata, Y. : Cartilage regeneration using slow release of bone morphogenetic protein-2 from a gelatin sponge to treat experimental canine tracheomalacia : Apreliminary report. *ASAIO Journal*. **49** : 63-69(2003)
- Okamoto, T., Yamamoto, Y., Gotoh, M., Huang, C.L., Nakamura, T., Shimizu, Y., Tabata, Y., Yokomise, H. : Slow release of bone morphogenetic protein(BMP)2 from a gelatin sponge promotes regeneration of tracheal cartilage. *J Thorac Cardiovasc Surg* . (in press)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Kojima, H., Magrúfov, A., Omori, K., Hiratsuka, Y., Hirano, S, Ito, J., Shimizu, Y. : Regeneration of the vocal cord using autologous mesenchymal stem cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **112** : 915-20(2003)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Kojima, H., Omori, K., Hiratsuka, Y., Magrúfov, A., Ito, J., Shimizu, Y. : Recurrent laryngeal nerve regeneration by tissue engineering. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **112** : 492-8(2003)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrúfov, A., Yamashita, M., Shimizu, Y., Takahashi, H., Ito, J. : Regeneration of the mastoid air cells in clinical applications. *Acta Otolaryngol*. (in press)
- Kuremoto, K., Nakamura, T., Matsuno, T., Inoue, H., Shimizu, Y. : Experimental study of regeneration of tooth pulp using in situ Tissue Engineering. *Tissue Engineering*. **9** : 845-848(2003)
- 呉本晃一, 中村達雄, 松野智宣, 井上 宏, 清水慶彦 : *in situ* Tissue Engineering による歯髄再生のための基礎的研究 . *炎症・再生* . **23** : 488(2003)
- 桜井靖久, 井村裕夫, 清水慶彦, 吉良貞伸 : 再生医療の現状と将来展望 . *日本医師会雑誌* . **129** : 285-298(2003)
- Terada, Y. Eguchi, Y. Nosaka, S. Toba, T. Nakamura, T. Shimizu, Y. : Capillary endothelial thrombomodulin expression and fibrin deposition in rats with continuous and bolus lipopolysaccharide administration. *Lab Invest*.

83 : 1165-73(2003)

鳥羽紀成 : 末梢神経の再生医療 . 日本医師会雑誌 . 129 : 323-327(2003)

Toba, T., Nakamura, T. : Experimental research on peripheral nerve regeneration using PGA-collagen nerve conduit filled with collagen sponge. *Connective Tissue*. 35 : 45-52(2003)

鳥羽紀成, 中村達雄, 清水慶彦, 稲田有史 : 末梢神経 . バイオマテリアル - 生体材料 - Journal of Japanese Society for Biomaterials. 21 : 186-187(2003)

Naito, Y., Nakamura, T., Nakagawa, T., Iguchi, F., Endo, T., Fujino, K., Kim, T. -S., Hiratsuka, Y., Tamura, T., Kanemaru, S., Shimizu, Y., Ito, J. : Transplantation of bone marrow stromal cells into the cochlea of chinchillas. *Neuro Report*. 14 : (in press)

中原 貴, 中村達雄, 田畑泰彦, 江藤一洋, 清水慶彦 : In situ Tissue Engineering による歯周組織の再生 . Inflammation and Regeneration. 23 : 116-121(2003)

Nakahara, T., Nakamura, T., Kobayashi, E., Inoue, M., Shigeno, K., Tabata, Y., Eto, K., Shimizu, Y. : Novel approach to regeneration of periodontal tissues based on in situ tissue engineering : Effects of controlled release of basic fibroblast growth factor from a sandwich membrane. *Tissue Engineering*. 9 : 153-162(2003)

野村宗吾, 瀧川敏算, 升田利史郎, 田村暢成, 中村達雄, 清水慶彦, Nomura, S., Takigawa, T., Masuda, T., Tamura, N., Nakamura, T., Shimizu, Y.) : 血管再生のための足場材料としての異種血管の力学的性質 . (Mechanical properties of xenograft used for a scaffold for regeneration of blood vessels). 材料(J. Soc. Mat. Sci., Japan). 52 : 309-313(2003)

萩原明於, 伊藤忠雄, 山岸久一, 邵 仁哲, 三木恒治, 中村達雄, 清水慶彦 : 神経再生チューブを用いた神経再建 - 直腸がん手術における神経再生チューブの臨床応用 - . 最新医学 . 58 : 108-113(2003)

Hori, Y., Nakamura, T., Kimura, D., Kaino, K., Kurokawa, Y., Satomi, S., Shimizu, Y. : Effect of basic fibroblast growth factor on vascularization in esophagus tissue engineering. *Int J Artif Organs*. 26 : 241-244(2003)

Matsuno, T., Nakamura, T., Kuremoto, K., Satoh, T., Shimizu, Y. : In vivo osteogenetic potential bone marrow mesenchymal stem cell on β -tricalcium phosphate(β -TCP)/collagen sponge. *ASAIO J*. 49 : 209(2003)

Matsuno, T., Nakamura, T., Kuremoto, K., Satoh, T., Shimizu, Y. : Fabrication of β -TCP/collagen sponge for bone regeneration. *Int J Artif Organs*. 26 : 638(2003)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 小林丈士, 中原 貴, 佐藤田鶴子, 清水慶彦 : 自家成長因子を用いた β -TCP/コラーゲンスポンジによる骨再生 . 炎症・再生 . 23 : 502(2003)

Yamamoto, T., Hayakawa, K., Tabata, Y., Shimizu, Y., Ikada, Y. : Transcatheter arterial embolization using poly-L-lactic acid microspheres. *Radiation Medicine*. 21 : 150-154(2003)

Lee, Y., Nakamura, T., Shimizu, Y., Yamamoto, Y., Kiyotani, T., Tsuda, T., Teramachi, M., Takimoto, Y. : Regeneration of serous membrane on gelatin-processed polyglycolic acid(PGA)/human collagen membrane and its efficacy on the prevention of adhesion. *J. Biomed. Mater. Res*. 64 : 88-92(2003)

Liu, Y., Nakamura, T., Shimizu, Y., Ueda, H., Yoshitani, M., Toba, T., Fukuda, S. : Experimental Study of Blood Typing in Immunosuppressant-free Tracheal Transplantation in Dogs. *Thorac Cardio Surg*. 51 : 216-220(2003)

研究施設紹介・京都大学再生医科学研究所 . 日本再生医療学会雑誌・再生医療 . 2 : 125-135(2003)

2) 著 書

中村達雄：場の理論を用いた食道の再生。「ここまで進んだ再生医療の実際」(田畑泰彦／編，羊土社)129-134(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

清水慶彦：日常再生医療の現状と産業化への将来．国際バイオ EXPO 専門技術セミナー(2003.5.14. 東京)

清水慶彦：末梢神経の再生．日本医科大学医学会・第13会公開シンポジウム(2003.6.7. 東京)

清水慶彦：呼吸器系の再生医学．第56回日本胸部外科学会総会(2003.11.19-21. 東京)

清水慶彦：末梢神経の再生．第26会広島神経医科学研究会(2003.12.1. 広島)

Nakamura, T., Inada, Y., Endo, K., Kuremoto, K., Fukuda, S., Yoshitani, M., Toba, T., Itoi, S., Kanemaru, S., Tanaka, S., Shimizu, Y.: Peripheral nerve regeneration in bioresorbable nerve tube using *in situ* Tissue Engineering. 2nd Meeting of the European Tissue Engineering Society(ETES)(2003.9.3-6. Genoa, Italy)

中村達雄：末梢神経の再生．京都大学再生医科学研究所開所5周年記念シンポジウム(2003.10.6. 京都)

伊藤忠雄，中村達雄，鈴木 啓，高木 剛，萩原明於，三木恒治，山岸久一，清水 慶彦：生体内分解吸収性材料を用いた人工神経結合チャンネルによる下腹神経の再生．第103会日本外科学会(2003.6.4-6. 札幌)

Ito, T., Nakamura, T., Suzuki, K., Takagi, T., Hagiwara, A., Miki, T., Yamagishi, H., Shimizu, Y.: Regeneration of the hypogastric nerve using an artificial nerve conduit in a canine model. ASAIO (American Society for Artificial Internal Organs)- ISAO (International Society for Artificial Organs) joint conference (2003.6.19-21. Washington DC)

伊藤忠雄，中村達雄，鈴木 啓，高木 剛，萩原明於，三木恒治，山岸久一，清水慶彦：新しい人工神経管による下腹神経の再生．第58回日本消化器外科学会総会(2003.7.16-18. 東京)

伊藤忠雄，中村達雄，鈴木 啓，高木 剛，萩原明於，三木恒治，山岸久一，清水慶彦：ポリグリコール酸(PGA)コラーゲンスポンジ複合チューブを用いた腹腔内自律神経系の再生．第24回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

稲田有史：コラーゲンスポンジで内腔を充填したPGA(Polyglycolic acid) tubeによる末梢神経損傷の再建．第46回日本形成外科学会総会・学術集会(2003.4.9-11. 神戸)

稲田有史，清水慶彦，中村達雄，森本 茂，山科幸夫，川西弘一，鶴園雅史，原納明博，重松浩司，矢島弘嗣，高倉義典：Polyglycolic acid-collagen tubeによる末梢神経再建への挑戦．第76回日本整形外科学会学術集会(2003.5.22-25. 金沢)

稲田有史，中村達雄，清水慶彦，森本 茂，下林幹夫，矢島弘嗣，高倉義典，稲田道夫，山科幸夫，川西弘一，小島康宣，重松浩司：Polyglycolic-acid-Collagen(PGA-C) tubeによるCausalgia(Complex regional pain syndrome: CRPS Type II)の外科的治療．第30回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2003.11.13-14. 岡山)

稲田有史，清水慶彦，中村達雄，森本 茂，山科幸夫，川西弘一，重松浩司，面川庄平，大島卓也，土肥義浩，下林幹夫，稲田道夫：寒冷時疼痛を主訴とする陳旧性指神経損傷に対するPolyglycolic-Acid Collagen(PGA-C) tubeの効果．第30回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2003.11.13-14. 岡山)

稲田有史，橋爪圭司，諸井慶七郎，岩田敏男，古家 仁，清水慶彦，中村達雄：Causalgia(CRPS Type II)の外科的

- 治療 - Polyglycolic-acid Collager(PGA-C) tube による生体内再生治療 - . 第 25 回日本疼痛学会(2003.12.6. 東京)
- 大森孝一, 中村達雄, 金丸真一, マグロフ アフマル, 平塚康之, 伊藤壽一, 清水慶彦: In situ tissue engineering による喉頭の再生. 第 104 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(2003.5.22-24. 東京)
- 大森孝一, 中村達雄, 金丸真一, Magrufov Akhmar, 平塚康之, 伊藤壽一, 清水慶彦: 喉頭・気管の再生. 第 6 回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)
- 大森孝一, 中村達雄, 金丸真一, 安里 亮, 田中信三, 山下 勝, Magrufov Akhmar, 清水慶彦: 喉頭・気管の再生医療. 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- 岡本 卓, 山本恭通, 後藤正司, 劉 大革, 亀山耕太郎, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 中村達雄, 清水慶彦, 田畑泰彦: BMP 除放ゼラチンスポンジにより誘導した気管軟骨再生. 第 10 回 rhBMP-2 研究会(2003.7.19. 東京)
- 金丸真一, 中村達雄, 大森孝一, Magrufov Akhmar, 児嶋久剛, 平塚康之, 伊藤壽一, 清水慶彦: In situ tissue engineering による反回神経の機能的再生. 第 15 回日本喉頭科学会総会・学術講演会(2003.4.25-26. 秋田)
- 金丸真一, 大森孝一, 中村達雄, マグロフ アフマル, 金 泰秀, 辻 純, 内藤 泰, 伊藤壽一: In situ tissue engineering による乳突蜂巣再生の試み. 第 104 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(2003.5.22-24. 東京)
- 金丸真一, 中村達雄, Magrufov Akhmar, 大森孝一, 井口福一郎, 伊藤壽一, 清水慶彦: 自己間葉系細胞移植による声帯の再生. 第 6 回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Magrufov, A., Yamashita, M., Omori, K., Shimizu, Y., Takahashi, H., Ito, J.: Regeneration of the mastoid air cells of the temporal bone: In vitro study and clinical applications. The 3rd symposium of Middle Ear Mechanics in Research and Otology(2003.7.10. Matsuyama)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrufov, A., Tateya, I., Yamashita, M., Ito, J., Shimizu, Y.: Regeneration of the vocal fold using autologous bone marrow derived mesenchymal cells. 2nd Meeting of the European Tissue Engineering Society(ETES)(2003.9.3-6. Genoa, Italy)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Magrufov, A., Yamashita, M., Omori, K., Shimizu, Y., Ito, J.: Co-culture of mucosa and/or mesenchymal stem cells on the hydroxyapatite for regeneration of the mastoid air cells. American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Annual meeting Research Forum(2003.9.27. Florid, USA)
- Kanemaru, S., Omori, K., Nakamura, T., Magrufov, A., Shimizu, Y., Ito, J.: Stabilization technique of columella in type II and IV tympanoplasty. American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Annual meeting Scientific Program(2003.9.27. Florid, USA)
- 金丸真一, 中村達雄, 大森孝一, Magrufov Akhmar, 山下 勝, 藤野清大, 平海晴一, 内藤 泰, 伊藤壽一: 難治性慢性中耳炎に対する乳突蜂巣再生の試み. 第 13 回日本耳科学会(2003.10.16. 幕張)
- 金丸真一, 中村達雄, 大森孝一, Magrufov Akhmar, 平塚康之, 児嶋久剛, 伊藤壽一, 清水慶彦: 頭頸部領域における神経再生の試み. 第 55 回日本気管食道科学会(2003.10.31. 福岡)
- 金丸真一, 中村達雄, Magrufov Akhmar, 山下 勝, 井口福一郎, 大森孝一, 伊藤壽一, 清水慶彦: 骨髄由来自己間葉系細胞による声帯の再生. 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- Kuremoto, K., Nakamura, T., Matsuno, T., Inoue, H., Shimizu, Y.: Experimental study of regeneration of tooth pulp using *in situ* Tissue Engineering. 2nd Meeting of the European Tissue Engineering Society(ETES)(2003.9.3-6. Genoa, Italy)

- 呉本晃一, 中村達雄, 松野智宣, 井上 宏, 清水慶彦: in situ Tissue Engineering による歯髄再生のための基礎的研究. 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- 呉本晃一: 再生医療における学内共同研究 - 補綴領域からのアプローチ -. 第 236 回 ODU オープンセミナー (2003.10.28. 大阪)
- 小林英三郎, 又賀 泉, 中村達雄, 中原 貴, 清水慶彦: 顎関節円板の再生に関する実験的研究. 第 25 回バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)
- 重松浩司, 矢島弘嗣, 稲田有史, 小島康宣, 河村健二, 清水慶彦, 中村達雄: ラットにおける collagen sponge 充填 PGA 人工神経内の組織再生. 第 30 回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2003.11.13-14. 岡山)
- 高橋充, 中村達雄, 鳥羽紀成, 森野茂行, 東 高志, 伊東 仁, 梶原直央, 加藤治文, 清水慶彦: 肺高血圧症に対する血管新生療法. 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- Tanaka, S., Nakamura, T., Shimizu, Y., Takigawa, T.: Mechanical Properties of Nerve Guide Tubes Composed of Poly (glycolic acid)and Collagen. 第 51 回レオロジー討論会(2003.9.17-19. 奈良)
- 田中郷史, 瀧川敏算, 中村達雄, 清水慶彦: ポリグリコール酸 - コラーゲン神経接合管の力学的性質 -. 第 47 回日本学術会議材料研究連合講演会(2003.10.29-30. 京都)
- Tanaka, S., Nakamura, T., Shimizu, Y., Takigawa, T.: Mechanical properties of nerve guide tubes composed of poly (glycolic acid)and collagen. 2nd Meeting of the European Tissue Engineering Society(ETES)(2003.9.3-6. Genoa, Italy)
- Toba, T., Nakamura, T., Matsumoto, K., Shimizu, Y.: Long-term evaluation of regeneration along canine peroneal nerve using a polyglycolic acid(PGA)- collagen nerve conduits filled with collagen fibers. ASAIQ(American Society for Artificial Internal Organs)- ISAQ(International Society for Artificial Organs)joint conference (2003.6.19-21. Washington DC)
- 中原 貴, 中村達雄, 小林英三郎, 江藤一洋, 清水慶彦: 歯根膜由来細胞とコラーゲンスポンジによる歯周組織の in situ Tissue Engineering . 第 45 回歯科基礎医学会(2003.9.18. 盛岡)
- 中原 貴, 中村達雄, 小林英三郎, 呉本晃一, 松野智宣, 江藤一洋, 田畑泰彦, 清水慶彦: 再生の足場としてのコラーゲンと歯根膜由来細胞を用いた歯周組織の生体組織工学. 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)
- 中村隆宏, 伊藤若菜, 曾我部寿代, 稲富 勉, 外園千恵, 木下 茂, 吉谷 信, 清水慶彦, Rigby H, Fullwood NJ.: 乾燥羊膜を用いた眼表面再建術の開発. 第 6 回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)
- 野田澤俊介, 中村達雄, 清水慶彦, 瀧川敏算: 種々のステントを用いて作製したメッシュ型人工気管の力学特性の比較. 第 51 回レオロジー討論会(2003.9.17-19. 奈良)
- 福田正順, 中村達雄, 岸上義弘, 遠藤克昭, 藤川孝満, 清水慶彦: 新しいイヌ脊髄損傷モデルの作成. 第 6 回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)
- Fukuda, S., Nakamura, T., Kishigami Y., Endo, K., Fujikawa, T., Shimizu, Y.: A canine spinal cord injury model using an inflatable balloon compression. ESAQ(European Society for Artificial Organs)(2003.9.3-6, Aachen)
- Fukushima, H., Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magruffov, A., Yamashita, M., Asato, R., Ito, J., Shimizu, Y.: Regeneration of the cranial nerve using in situ Tissue Engineering. 2nd Meeting of the European Tissue Engineering Society(ETES)(2003.9.3-6. Genoa, Italy)
- マグローフ アフマル, 金丸真一, 中村達雄, 大森孝一, 金 泰秀, 井口福一郎, 伊藤壽一: In vitro study of co-cultured

mucosal and / or mesenchymal stem cells on hydroxyapatite . 第 104 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(2003.5.22-24. 東京)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 金丸真一, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: 骨再生スキャホールドとしての β -TCP/ コラーゲンスポンジの作製 . 第 57 回日本口腔科学会(2003.5.8. 福岡)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: β -TCP/ コラーゲンスポンジを用いた骨再生 . 第 6 回日本組織工学会(2003.6.12-13. 東京)

Matsuno, T., Nakamura, T., Kuremoto, K., Satoh, T., Shimizu, Y.: In vivo osteogenetic potential bone marrow mesenchymal stem cell on β -tricalcium phosphate(β -TCP)/collagen sponge. ASAI(American Society for Artificial Internal Organs)- ISAO(International Society for Artificial Organs)joint conference(2003.6.19-21. Washington DC)

Matsuno, T., Nakamura, T., Kuremoto, K., Satoh, T., Shimizu, Y.: Fabrication of β -TCP/collagen sponge for bone regeneration. 30th ESAO(European Society for Artificial Organs)(2003.9.3-6. Aachen)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 中原 貴, 北原和樹, 宮坂孝弘, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: β -TCP/ コラーゲンボジツスポンジによる in site tissue engineering を用いた骨再生 . 第 1 回日本再生歯科医学会(2003.10.14. 岡山)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: β -TCP/ コラーゲンスポンジと PRP による骨再生 . 第 48 回日本口腔外科学会(2003.10.24. 富山)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 小林丈士, 中原 貴, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: 自家成長因子を用いた β -TCP/ コラーゲンスポンジによる骨再生 . 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 小林丈士, 清水慶彦, 中原 貴, 佐藤田鶴子: 自家成長因子と β -TCP/ コラーゲンスポンジ充填 PGA Tube による骨再生 . 第 25 回バイオマテリアル学会大会(2003.12.16-17. 大阪)

山下 勝, 大森孝一, 金丸真一, Magrufov Akhmar, 中村達雄, 伊藤壽一: In Situ Tissue Engineering を用いた喉頭枠組みの再生: 内腔の形態復元を目指して . 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

Yoshitani, M., Fukuda, S., Toba, T., Nakamura, T., Shimizu, Y.: Canine phrenic nerve regeneration with PGA collagen conduit. 30th ESAO(European Society for Artificial Organs)(2003.9.3-6. Aachen)

附属再生実験動物施設

Labortory of Animal Experiments for Regeneration

分野主任 施設長(併)・教授 坂口 志文

Acting Head, Prof. Shimon Sakaguchi

【再生実験動物施設の現状について】

附属再生実験動物施設では、2003年11月30日現在では、イヌ；147匹、ネコ；9匹、サル；5匹、ウサギ；75匹、ラット；127匹、マウス；6413匹を実験動物として飼育し、実験に供している。これらの実験動物の飼育・管理を13名の助教授・技官・非常勤職員で行っている。イヌについては、狂犬病予防法に基づき、毎年、京都市獣医師会に依頼し、該当する全てのイヌを登録し予防注射を行っている。

本研究所で動物実験を行うにあたっては、生命倫理・動物福祉に十分の理解と配慮をして実施する事が大前提である。この原則を周知・徹底させるため、動物実験に従事する者には、動物実験に関する法規制・内規、動物実験実施にあたっての原則、実験動物の取り扱い方等についての所内講習の受講を義務付けている。南部総合研究実験棟・動物飼育室を利用する者は、これに加えて、SPFマウスの取り扱いについて講習を受けなければならない。動物実験を実施するには、動物実験計画書を本研究所の動物実験計画書審査委員会に提出し、厳格な審査を受け承認を得ることが必要である。

2002年12月から、新設された南部総合研究実験棟(再生医科学研究所、ウイルス研究所、遺伝子実験施設の3部局による共同研究実験棟)マウス飼育室が稼動を開始した。現在、SPFマウス飼育室・全16室中、再生研；8室、ウイルス研；4室、遺伝子実験施設；1室、共同利用として1室を使用しており、残り2室は調整中である。本マウス飼育棟ではSPFマウスのみが飼育され、動物実験が行われている。搬入できるマウスは、実験動物供給業者から購入するSPFマウスを除き、本施設等において受精卵移植等による微生物除去操作を受けSPF化されたマウスのみに限定されている。SPFマウス飼育舎の飼育・管理は3部局からの14名の技官・非常勤職員により行われている。施設使用がスタートして一年を経過した現時点まで、感染事故等の深刻な問題は起きていない。しかし、稼働し始めて、ハードの面での設計、建築、設備に種々の問題があることが明らかとなってきた。室温、風量制御、冬季の凍結防止対策の不備、コンクリ片落下等、管理者サイドから予測不可能な問題があり、不備な点については対応中である。完成してから始めて分かる問題点もあるが、設計の段階で予測できる問題が十分に解決されていたのかどうか疑問に思われる点も少なくない。今後、このような施設の建設に当たっては、当初から、現場で常時働いている飼育管理員との小まめな意見交換により、特にハード面での問題点が解決されることが必要であると痛感される。また、施設運営に関しても、3部局共同の建物であるため、運営・予算の執行方針が十分に定まっておらず、いまだ暗中模索している。国立大学の独立行政法人化を目前にしている現在、上記の問題点が早急に解決されることが必要である。

近年、実験動物として使用するマウス、ラットについては、SPF(Specific pathogen-free)グレードであることが国際的な標準とされてきているが、コンベンショナル動物の飼育も単にコスト・パフォーマンスの点だけでなく、科学的な視点からも、その必要性があることが認識されている。コンベンショナル環境で飼育され、種々の興味深い表現型を示す近交系マウスや遺伝子操作マウスをSPF化した後、それらの特徴ある表現型の発現が低下ないし

消失してきたとの報告も少なくなく、このような事実は本研究所においても経験されていることである。これらのことは、マウスを飼育する環境の微生物環境(microbial flora)が遺伝子発現に大きく影響をしていることを示しているものと理解される。コンベンショナル動物の管理にあたっては種々の問題点はあるが、動物実験の本来の意味を十分に考慮し、利用者と管理者の協力のもとで、そのメリットを十分活用すべきであろう。

共同実験棟マウス飼育室において、SPF マウスの微生物汚染を防止するためには、動物飼育員、利用者各人の十分な注意が必要であるが、多数の人間が出入りする以上、何時かは汚染が生じる可能性は除外できない。不幸にして、幾つかの国立大学の動物実験施設で微生物汚染事故が発生したことが報告されている。それらの苦い経験から、SPF マウスの微生物汚染の発生原因、汚染拡大様式、汚染除去法などを十分に学び、万一汚染が生じた時のことも想定し、汚染を最小限度に封じ込める等の対策について、本動物施設でも予め具体的な方策を立てておくことが必要であろう。

なお、2003 年 3 月末に動物施設の専任教員が定年退職した。動物施設の実務管理業務の責任は後任の専任教員に引き継がれる(前田道之)。

【研究概要】

再生実験動物施設は、再生医科学研究所の附属施設として、研究実施に不可欠である動物実験に関する全般的な管理業務(再生研の動物実験計画書の審査に関係する業務、動物実験に関する講習会の開催、再生研における実験動物の維持、管理など)と共に、一研究分野として研究活動を行っている。

研究活動としては、二つの異なる課題に沿った研究を行ってきた。

第 1 の研究課題は、免疫応答を制御する中枢機能を持つ非常に重要な細胞であるヒト T 細胞はヒト・レトロウイルス(HTLV-1)感染により異常増殖し、数十年の年月を経て白血病細胞となり成人 T 細胞白血病を発症するが、その発症過程と T 細胞の悪性化増殖機構を明らかにすることである。本研究で得られてきた成果概要は 2002 年度の再生研年報に詳しく記載してあるので、それを参照されたい。我々の樹立した T 細胞株を使って、成人 T 細胞白血病の成因に関して多くの研究成果が共同研究により得られてきた。また、これらの細胞を用いて、チオレドキシン遺伝子、ヒト IL-4 等の遺伝子が単離されており、T 細胞の増殖シグナル伝達の研究にも活用されており、新しい生理活性物質の同定も期待される。HTLV-1 感染 T 細胞の解析から、正常 T 細胞の増殖機構における IL-2/IL-2 受容体系の重要性が明らかとなってきたが、今後もこの方面での生理機能の解析に大きな寄与が期待される。これらの樹立された HTLV-1 感染細胞株が、今後も多くの研究に寄与するシステムを作るため、細胞株を整理し、それらを容易に入手・供給できるシステムとしてのミニ・バンクを計画中である。本研究を担当してきた動物施設専任教員は本年 3 月末で定年退職したが、4 月以降は、京都大学ウイルス研究所の諸先生方の協力を得て、上記の計画を実施するため細胞株の整理を開始している。

第 2 の研究課題としては、生殖医学の細胞生物学的研究を行ってきた。本研究は 1990 年以来、本学産婦人科学教室の藤原浩講師を中心とする生殖研究グループ、ウイルス研究所の上田正道先生との共同研究として実施してきたものである。具体的な研究目的は、ヒト卵巣顆粒膜細胞・黄体細胞の機能を明らかにすることである。このテーマでは上記の女性の生殖細胞(組織)に発現する種々の未同定の分子を、上記の組織を抗原として単クローン抗体を作成する事により同定し、その機能を研究してきた。本研究についても、研究概要の詳細については 2002 年度の再生研年報に記載してあるので、それを参照されたい。

動物施設における上記の研究課題に沿った研究は、担当教員の退職により 3 月末で終了した(前田道之)。

In our laboratory, we have been involved in two research projects. One of our research objectives is to elucidate the pathogenesis of adult T cell leukemia (ATL) which is caused by the malignant transformation of human retrovirus (HTLV-1) infected T cells. We have been engaged in the study these twenty years. HTLV-1 infected normal T cells appeared to express the interleukin 2 (IL-2) receptor constitutively, and they continued to proliferate in the presence of IL-2 indefinitely in vitro. We have established more than fifty HTLV-1-infected T cell lines, including 5 leukemic T cell lines, from ATL patients by using IL-2 as a growth factor. These results gave an evidence that IL-2 expanded and maintained the growth of leukemic cell clone cells probably in the initial phase of ATL development. Some of IL-2 dependent T cell lines began growing without exogenous IL-2 (immortalization), and further acquired tumorigenicity in immune deficient nude mice and/or SCID mice. Five HTLV-1-infected T cell lines established in our laboratory showed tumorigenicity in nude mice and/or SCID mice. From these observations we proposed a stepwise growth progression hypothesis for ATL pathogenesis. Now we have been working to elucidate the molecular events in malignant transformation of HTLV-1-infected T cells by cDNA microarray analysis using many T cell lines established in our laboratory.

The ATL-derived HTLV-1-infected T cell lines in this laboratory have been reported very valuable in many research projects. Therefore we are planning to prepare a mini cell bank which consist of 20-30 T cell lines established in our laboratory for researchers who are interested in those T cell lines for their research projects. The mini bank is now under construction, by the support of professors in the Institute for Virus Research, Kyoto University.

Another research project is to find out molecule(s) physiologically important in the growth and differentiation of human female reproductive organs and tissues, namely human ovary and endometrium, which are characterized by their periodic repetitions of growth, differentiation and cell death. This research project started in 1990 and has been continued in collaboration with Dr. Hiroshi Fujiwara of Department of Gynecology and Obstetrics of Kyoto university Medical School and Dr. Masamichi Ueda of Institute for Virus Research, Kyoto University. To find out unknown molecules that are expressed in these tissues, we produced several monoclonal antibodies against different kinds of cells constituting these tissues and have identified several important molecules, such as metallo-peptidases, integrins, MHC class II molecules and some non-identified molecules, which play possibly important physiological roles. Now we have been trying to produce monoclonal antibodies against trophoblasts, which play important role(s) during fetal development, to investigate the molecular events in materno-fetal interface. An unknown peptidase molecule was identified and has been applied for a patent. Results of these projects have been published in more than 40 research papers in major medical journals.

These research projects in this laboratory were closed at the end of March, 2003, since the researcher in charge of these research projects retired from this research institute under the age limit (Michiyuki Maeda, M.D., Ph. D.)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Nishimura M., Maeda M., Yasunaga J., Kawakami H., Kaji R., Adachi A., Uchiyama T. and Matsuoka M. Influence of cytokine and mannose binding protein gene polymorphisms on human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I)

- provirus load in HTLV-I asymptomatic carriers. *Human Immunol.* **64** : 453-457, 2003.
- Dewan M. Z., Terashima K., Taruishi M., Hasagawa H., Ito M., Tanaka Y., Mori N., Sata T., Koyanagi Y., Maeda M., Kubuki Y., Okayama A., Fujii M. and Yamamoto N. Rapid tumor formation of human T-cell leukemia virus type 1-infected cell lines in novel NOD-SCID/ γ c null mice : Suppression by an inhibitor against NF- κ B. *J. Virol.*, **77** : 5286-5294, 2003.
- Yoshioka S., Fujiwara H., Higuchi T., Yamada S., Maeda M. and Fujii S. Melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD 146) is expressed on human luteinizing granulosa cells : enhancement of its expression by hCG, IL-1 and TNF- α . *Mol. Hum. Reprod.* **9** : 311-319, 2003.
- Higuchi T., Fujiwara H., Egawa H., Sato Y., Yoshioka S., Tatsumi K., Itoh K., Maeda M., Fujita J. and Fujii S. Cyclic AMP enhances the expression of a marker for extravillous trophoblasts, melanoma cell adhesion molecule, in choriocarcinoma cell JEG3 and human chorionic villous explant cultures. *Mol. Human Reprod.*, **9** : 359-366, 2003.
- Fujiwara H., Tatsumi K., Kosaka K., Sato Y., Higuchi T., Yoshioka S., Maeda M., Ueda M. and Fujii S. Human blastocysts and endometrial epithelial cells express activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM/CD 166). *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88** : 3437-3443, 2003.
- Takeda S., Maeda M., Morikawa S., Taniguchi Y., Yasunaga J., Nosaka K., Tanaka Y. and Matsuoka M. Genetic and epigenetic inactivation of TAX gene in Adult T-cell leukemia cells. *Int. J. Cancer* (in press)
- Nishinaka U., Nishiyama A., Masutani H., Oka S., Ahsan K. Md., Nakayama Y., Ishii Y., Nakamura H., Maeda M. and Yodoi J. Loss of thioredoxin binding protein-2/vitamin D3 upregulated protein 1 (TBP-2/VDUP1) in HTLV-1-dependent T-cell transformation : Implications for ATL leukemogenesis. *Cancer Res.* (in press)
- Hironaka N., Mochida K., Mori N., Maeda M., Yamamoto N. and Yamaoka S. Tax-independent constitutive I κ B kinase activation in adult T-cell leukemia cells. *Neoplasia* (in press)

(文責 ; 前田道之)

附属幹細胞医学研究センター

霊長類胚性幹細胞研究領域

Laboratory of Embryonic Stem Cell Research

分野主任 助教授 末盛 博文

Assoc. Prof. Hirofumi Suemori

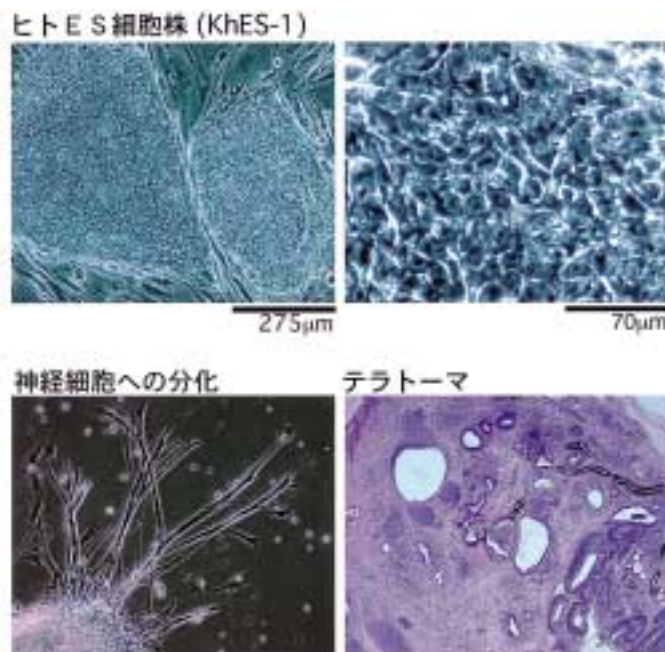
【研究概要】

霊長類胚性幹細胞研究領域ではヒト及び他の霊長類 ES 細胞の医療応用を目指した基盤研究を行っている。ヒト ES 細胞株の樹立とその分配事業は本研究領域の最重要の任務と位置づけられている。ヒト ES 細胞は再生医療の発展に大きく寄与するものと考えられ、国内で樹立された細胞株の供給体制の確立が望まれてきた。平成 14 年 4 月にヒト ES 細胞株樹立研究計画の政府承認を得て凍結胚の提供候補者に対するインフォームドコンセントに関する説明を行い、凍結胚の提供を受けて平成 15 年初頭よりヒト ES 細胞株樹立を開始した。研究計画の策定時より多くの提供者が現れることは期待されていなかったが、それ以上に実際に提供を受けることのできた凍結胚は少数であった。一年間に提供を受けた計二十数個の凍結胚を解凍・培養して ES 細胞株の樹立に用いることのできる胚盤胞まで発生したものは三つであった。これらを用いて細胞株の樹立を試みたところそのいずれからでも ES 細胞株の樹立を行うことができた。これは従来の報告に比べ非常に高い樹立効率である。ヒト ES 細胞株の樹立に先立つカニクイザルの ES 細胞株樹立研究の成果であるといえる。これらのヒト ES 細胞株はそれぞれ KhES-1,2,3 と名付けられた。樹立した細胞株の分配事業のためにこれまでに十分な数量の凍結細胞をストックしており平成 16 年をはじめには分配が開始される予定である。

このほか ES 細胞の医療応用を目指した基盤研究として、霊長類 ES 細胞の多能性維持機構、自己複製能に関する研究を行っている。また ES 細胞の遺伝子操作技術の開発研究などの将来の医療応用において不可欠の開発研究を進めている。

Laboratory of Embryonic Stem Cell Research

We are performing basic researches aiming clinical use of human embryonic stem cells, and also pre-clinical researches using non-human primate ES cells. Establishment and distribution of human ES cell lines is an important role of our own. After the governmental approval of the research project, in January 2003, we started establishing human ES cell lines using donated frozen embryos. Although the number of embryos was not as large



樹立されたヒト ES 細胞株 KhES-1 . (上)
ヒト ES 細胞から分化誘導された神経細胞 (下左)
ヒト ES 細胞から作られたテラトーマ . (下右) 様々な組織の分化が認められる。

as we anticipated, three blastocysts were obtained. ICM isolated from them were cultured to establish ES cell lines, and three cell lines were successfully obtained. The efficiency of establishment is much higher than that previously reported. These cell lines were named KhES-1,2,3. We have already stored enough number of frozen stock of each cell line for distribution of human ES cells, which will start early in 2004.

We are also studying on molecular mechanisms for maintenance of pluripotency and self-renewal of primate ES cells, in addition, development of genetic manipulation techniques in primate ES cells. These researches are considered indispensable for clinical and pre-clinical researches using human and non-human ES cells.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Haruta, M., Sasai, Y., Kawasaki, H., Amemiya, K., Ooto, S., Kitada, M., Suemori, H., Nakatsuji, N., Ide, C., Honda, Y., Takahashi, M.: *In vitro* and *in vivo* Characterization of Pigment Epithelial Cells Differentiated from Primate Embryonic Stem Cells. Invest. Ophthalm. Vis. Sci. in press.
- Furuya, M., Yasuchika, K., Yoshimura, Y., Nakatsuji, N., Suemori, H.: Electroporation of cynomolgus monkey embryonic stem cells. Genesis, **37**: 180-187(2003).
- Nagata, M., Takahashi, M., Marumatsu, S., Ueda, Y., Hanazono, Y., Takeuchi, K., Okada, K., Suzuki, Y., Kondo, Y., Suemori, H., Ikeda, U., Nakano, I., Kobayashi, E., Hasegawa, M., Ozawa, K., Nakatsuji, N., Shimada, K.: Efficient gene transfer of simian immunodeficiency viral vector into cardiomyocytes derived from primate embryonic stem cell. J. Gene Med, **5**: 921-928(2003).
- Mizuseki, K., Sakamoto, T., Watanabe, K., Muguruma, K., Ikeya, M., Nishiyama, A., Arakawa, A., Suemori, H., Nakatsuji, N., Kawasaki, H., Murakami, F., Sasai, Y. Generation of neural crest-derived peripheral neurons and floor plate cells from mouse and primate embryonic stem cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **100**: 5828-5833 (2003)

2) 著書

- Suemori, H. and Nakatsuji, N.: Growth and differentiation of cynomolgus ES cells. Methods in Enzymology Vol. 365 (Edt. Wassarman, P. M.), 419-429(2003)

3) 総説

- 未盛 博文: 再生医療と幹細胞. KAST REPORT **15**, 20-25(2003)
- 未盛 博文: ES細胞株の樹立. Molecular Medicine **40**, 98-105(2003)
- 未盛 博文: 霊長類ES細胞株. 実験医学 **21**, 1014-1019(2003)
- 未盛 博文: ES細胞と再生医療. 医学のあゆみ **204**, 933-937(2003)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

末盛博文, 安近健太郎, 中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の樹立とその特性解析. 第 24 回日本炎症・再生医学会(2003.11.26-27. 京都)

末盛博文, 安近健太郎, 中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の特性解析. 第 26 回日本分子生物学会(2003.12.10-13. 神戸)
浅香勲, 末盛博文, 菅井晴美, 岡本玲子, 鈴木豊, 近藤靖, 仁藤新治, 下岡正志, 中辻憲夫: カニクイザル ES 細胞の安定な凍結保存法に関する研究. 第 2 回日本再生医療学会(2003.3.11-12. 神戸)

浅野隆之, 上田泰次, 長谷川護, 末盛博文, 中辻憲夫, 鈴木豊, 近藤靖, 波利井清紀, 小澤敬也, 花園豊: サル免疫不全ウイルスベクターによるサル ES 細胞への遺伝子導入. 第 2 回日本再生医療学会(2003.3.11-12. 神戸)
永田三保子, 高橋将文, 村松慎一, 上田泰次, 花園豊, 末盛博文, 池田宇一, 中野今治, 小林英司, 長谷川護, 小澤敬也, 中辻憲夫, 島田和幸: サル ES 細胞由来心筋細胞への遺伝子導入. 第 2 回日本再生医療学会(2003.3.11-12. 神戸)

長谷川浩二, 川村晃久, 平井希俊, 吉田善紀, 北 徹, 日高京子, 森崎隆幸, 平家俊男, 中畑龍俊, 田畑泰彦, 末盛博文, 中辻憲夫, 米田正始: ES 細胞を用いた心筋再生・心不全治療の確立を目指して. 第 2 回再生医療学会(2003.3.11-12. 神戸)

梅田雄嗣, 平家俊男, 吉本桃子, 末盛博文, 鳥居隆三, 中辻憲夫, 中畑龍俊: カニクイザル ES 細胞を用いた一次造血・二次造血の分化誘導. 第 2 回日本再生医療学会(2003.3.11-12. 神戸)

木村博信, 多田政子, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 多能性維持因子 Nanog/Stm1 タンパク質の発現パターン. 第 26 回日本分子生物学会(2003.12.10-13. 神戸)

秦野慎矢, 多田政子, 木村博信, 河野友宏, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 未分化特異的な *Nanog/Stm1* 遺伝子と疑似遺伝子 *Stm2* の発現. 第 75 回 日本遺伝学会(2003.9.24-26. 仙台)

2) 講演・シンポジウム

末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立とその医療応用へ向けての課題. 第 6 回 宝ヶ池セミナー 特別講演(2003.2.8. 京都)

末盛博文: ヒト ES 細胞の医療応用と課題. 第 7 回 遺伝子医療研究会 シンポジウム「再生医学と遺伝子医療」(2003.3.1. 大阪)

末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立と医療応用へ向けての課題. 東京大学医学部附属病院ティッシュ・エンジニアリング部 細胞プロセッシングセンター 開設記念シンポジウム(2003.5.23. 東京)

末盛博文: ES 細胞を用いた医学研究と再生医療. 第 40 回日本臨床分子医学会学術総会 シンポジウム(2003.7.11. 東京)

末盛博文: 霊長類 ES 細胞. 第 9 回 日本遺伝子治療学会 教育シンポジウム(2003.7.18. 東京)

末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立とその医療応用での課題. 第 6 回移植遺伝子工学研究会 教育講演(2003.10.26. 大阪)

末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立と医療応用. 第 50 回日本臨床検査医学会総会 シンポジウム(2003.10.30. 広島)

末盛博文: ES 細胞: マウスからヒトまで. 第 18 回日本生殖免疫学会総会・学術集会 シンポジウム(2003.11.29. 山口)

浅香勲, 末盛博文, 菅井晴美, 岡本玲子, 鈴木豊, 近藤靖, 仁藤新治, 下岡正志, 中辻憲夫: 霊長類 ES 細胞の凍結保存. 第 30 回日本低温医学会総会シンポジウム(2003.11.28-29. 札幌)

幹細胞分化制御研究領域 Laboratory of Stem Cell Differentiation

分野主任 助教授 山下 潤

Assoc. Prof. Jun Yamashita

【研究概要】

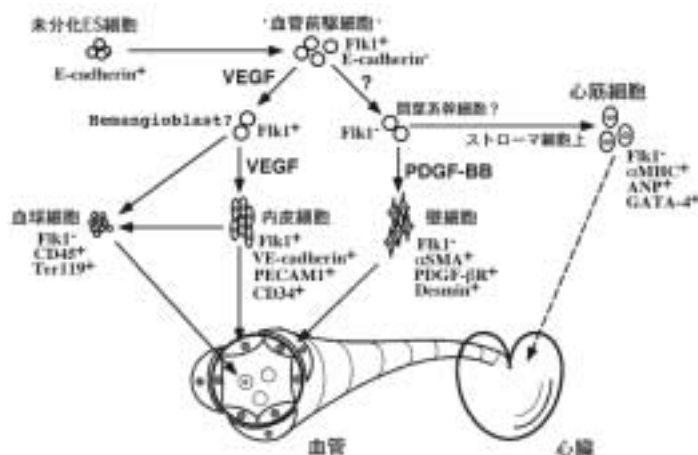
幹細胞分化制御研究領域では, ES 細胞(胚性幹細胞: embryonic stem cells)を用いて, 心血管系の細胞分化・再生に関する研究を行っている.

ES 細胞は, 全ての種類の細胞に分化することができるいわゆる「万能」幹細胞と考えられている. この全能性(pluripotency)を in vitro において引き出し, 分化誘導した細胞を再生治療に用いようとする試みが様々な臓器, 細胞をターゲットに行われている. 我々は, ES 細胞を用いて中胚葉由来組織である血管および心臓の分化研究を行ってきた.

血管は, 内腔を一層におおう内皮細胞とそれを外から取りまく壁細胞の 2 種類の細胞からなっている. その中を流れる血球細胞を含めてこれら血管構成細胞は互いに密接に関連しあい血管を形作る. VEGF の受容体の一つである Fik1 は血球・血管系細胞の最も早期の分化マーカーおよび中胚葉のマーカーと考えられている. 我々は, ES 細胞を用いて in vitro において中胚葉, さらに血管の構成細胞である血管内皮細胞と壁細胞(血管平滑筋細胞およびペリサイト)を選択的に分化誘導し, 最終的に血管としての高次構造を in vitro および in vivo において構築すること, いわば血管の発生過程を再現することに成功した(Yamashita J. et al. Nature, 2000.). この in vitro 分化系では, Fik1 陽性細胞を共通の前駆細胞として, 内皮細胞, 壁細胞, 血球細胞が分化し, さらにそれらの細胞が血管としての高次構造を形成する. 最近では, 中胚葉由来の細胞の一つである心筋細胞も同様に Fik1 陽性細胞から分

化誘導できることも明らかにしている.(図)

このように我々の ES 細胞を用いた in vitro 分化系は, 心血管および血球という循環器系の細胞群を系統的に分化誘導することができ, 心血管の発生分化過程を培養下に恣意的に操作しながらしかも経時的に観察できる. 従って, この分化系を用いることにより心臓血管の発生分化のメカニズムを細胞レベル, 分子レベルで検討し, ノックアウトマウスの形質解析に依存していた分化の分子機構の解析を in vitro で行うという新しいアプローチが可



能になったと考えられた。

現在，この ES 細胞 *in vitro* 分化系を用いて，以下のようなプロジェクトを遂行及び予定している。

1. ES 細胞 *in vitro* 分化系を用いた血管細胞分化・多様化の分子機構の解析

1) DNA チップを用いた網羅的血管分化関連遺伝子の同定と RNA 干渉を用いた *in vitro* 遺伝子機能解析系の構築

2) 動静脈・リンパ管内皮特異的分化誘導と内皮細胞多様化機構の解析

2. 誘導血管細胞の血管再生への応用

1) 移植におけるドナー細胞の最適な分化段階の決定

分化初期内皮細胞が特異的かつ有効に新生血管に寄与することを明らかにした(Yurugi-Kobayashi T. et al. Blood, 2003)。

2) 移植細胞の遺伝子修飾による組織への動員，生着効率の改善効果の検討

3) 人工生体材料を用いた新しいハイブリッド人工血管の開発

3. ES 細胞からの心筋細胞の分化誘導

1) 2 次元培養による新しい ES 細胞からの心筋細胞分化誘導法の開発

2) 心筋細胞 *in vitro* 分化系を用いた心筋分化・多様化の分子機構の解析

3) 新しい心臓再生治療への応用

4. 霊長類 ES 細胞からの心血管分化誘導

1) サル ES 細胞からの血管分化誘導

京都大学臨床病態医科学との共同研究により，サル ES 細胞からの血管分化誘導に成功した(Sone M. et al. Circulation, 2003)。

2) ヒト ES 細胞からの血管分化誘導

京都大学臨床病態医科学申請の輸入ヒト ES 細胞を用いた血管分化研究に参画し，日本最初のヒト ES 細胞分化研究を開始している。

3) ヒト ES 細胞からの心筋細胞分化誘導

京都大学再生医科学研究所樹立の国産ヒト ES 細胞を用いた心臓血管分化研究計画を新たに申請し，心血管再生へ向けた研究を進めている。

Main theme of our research : Elucidation of cellular and molecular mechanisms of cardiovascular development and the application to cardiovascular regeneration using *in vitro* differentiation system of embryonic stem cells(and somatic cells)。

Recently, we established a novel *in vitro* vascular differentiation system of ES cells(Yamashita et al. Nature, 2000) 。 Using ES cell-derived Flk1(VEGF receptor-2)positive mesodermal cells as starting material, we can induce all of the vascular cellular compartments, that is, endothelial cells, mural cells(vascular smooth muscle cells and pericytes)and blood cells. Vessel-like structures of endothelial cell tube with mural cell attachment and blood cell inside are formed from Flk1+ cell aggregates in 3-D culture. Thus, this *in vitro* system should reproduce the early process of vascular development. And we also demonstrated that the transplanted vascular cells induced by this system could contribute to developing vasculature *in vivo*. Moreover, we have succeeded in inducing cardiomyocytes from Flk1+ cells, indicating

that all of cardiovascular cellular components could be induced in our *in vitro* differentiation system. (Fig. 1)

Cardiovascular Differentiation from ES cell-derived Flk1⁺ cells

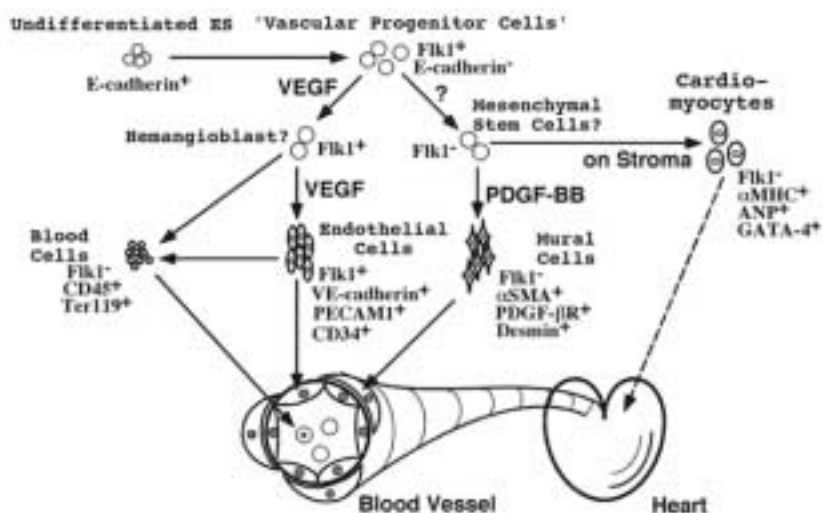


Fig. 1 : Cardiovascular development in ES cell *in vitro* differentiation system

In this system, we can manipulate the fate of cell differentiation, observe the behavior of differentiating cells, purify and obtain cells at various differentiation stages. This system provides us possibilities to dissect the mechanisms of cardiovascular development from new aspects, and offers novel potentials for cardiovascular regeneration.

Research Projects :

- 1 . Elucidation of cellular and molecular mechanisms of vascular cell differentiation and specification using ES cell *in vitro* differentiation system.
 - 1) Comprehensive molecular cloning of genes for endothelial cell differentiation by global gene expression profile with DNA chip and a novel *in vitro* functional assay system using vector-based siRNA expression.
 - 2) Specific induction of various endothelial cells types (i.e., arterial, venous, and lymphatic) and investigation of the mechanisms for endothelial specification.
- 2 . Application of induced vascular cells to vascular regeneration
 - 1) Evaluation of appropriate differentiation stage of donor cells for cell transplantation.

We have demonstrated that Flk1⁺/VE-cadherin⁺ early endothelial cells specifically contribute to blood vessels as endothelial cells, specifically and efficiently, whereas Flk1⁺/VE-cadherin⁻ vascular progenitor cells do not, using cell transplantation to mouse tumor angiogenesis model (Yurugi-Kobayashi T., et al. *Blood*, 2003)
 - 2) Improvement of the efficacy of recruitment, contribution, and survival of donor cells, by modifying gene expressions in donor cells.
 - 3) Development of novel hybrid vessels with ES cells and artificial scaffolds.
- 3 . Cardiomyocyte induction from ES cells
 - 1) Establishment of a novel cardiomyocyte induction system in 2-dimensional culture

We tried to induce cardiomyocytes from purified Flk1⁺ cell population in 2-D condition, and finally found that spontaneously beating colonies are efficiently induced when Flk1⁺ cells are co-cultured with stroma cell lines.

- 2) Dissection of cellular and molecular mechanisms of cardiomyocyte differentiation
- 3) Application to cardiac regeneration
- 4. Cardiovascular differentiation using primates ES cells
 - 1) Vascular cell differentiation from monkey ES cells

We have succeeded in vascular cell differentiation from monkey ES cells (Sone M. et al. **Circulation**, 2003) (collaboration with Department of Medicine and Clinical Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine).
 - 2) Vascular cell differentiation from human ES cells

We have already started research for vascular development using imported human ES cells as collaboration with Department of Medicine and Clinical Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine. (The first approved human ES cell research in Japan.)
 - 3) Cardiomyocyte differentiation using human ES cells

Now we are applying for a research of cardiovascular differentiation using domestic human ES cells to the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

- J. Yamashita, S.I. Nishikawa. Embryonic stem cell-derived endothelial cells. **Methods in Endothelial Cell Biology**. Springer-Verlag GmbH, Berlin, New York, Tokyo. *in press*.
- T. Watabe, A. Nishihara, K. Mishima, J. Yamashita, K. Shimizu, K. Miyazawa, S.I. Nishikawa, K. Miyazono. TGF- β receptor kinase inhibitor enhances growth and integrity of embryonic stem cell-derived endothelial cell. **J. Cell. Biol.** 163 : 1303-1311, 2003.
- M. Fujita, Y. Nakao, S. Matsunaga, M. Seiki, Y. Itoh, J. Yamashita, RWM. van Soest, N. Fusetani. Ageladine A : an anti-angiogenic matrixmetalloproteinase inhibitor from the marine sponge Agelas nakamurai. **J. Am. Chem. Soc.** 125 : 15700-15701, 2003.
- M. Sone, H. Itoh, J. Yamashita, T. Yurugi-Kobayashi, Y. Suzuki, Y. Kondo, A. Nonoguchi, N. Sawada, K. Yamahara, K. Miyashita, K. Park, S. Nito, M. Shibuya, S.I. Nishikawa, K. Nakao. Different differentiation kinetics of vascular progenitor cells in primate and mouse embryonic stem cells. **Circulation** 107 : 2085-2088, 2003.
- T. Yurugi-Kobayashi, H. Itoh, J. Yamashita, K. Yamahara, H. Hirai, T. Kobayashi, M. Ogawa, S. Nishikawa, S.I. Nishikawa, K. Nakao. Effective contribution of transplanted vascular progenitor cells derived from embryonic stem cells to adult neovascularization in proper differentiation stage. **Blood** 101 : 2675-2678, 2003.
- K. Yamahara, H. Itoh, T.H. Chun, Y. Ogawa, J. Yamashita, N. Sawada, Y. Fukunaga, M. Sone, T. Yurugi-Kobayashi, K. Miyashita, H. Tsujimoto, H. Kook, R. Feil, D.L. Garbers, F. Hofmann, K. Nakao. Significance and therapeutic potential of the natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase pathway in vascular regeneration. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 100 : 3404-3409, 2003.

和文総説

山下 潤：「ヒト ES 細胞の樹立・分化研究と再生医療応用」病理と臨床，21：698-702, 2003.

山下 潤：総説「幹細胞・ES 細胞 - 血管」再生医療，2：111-119, 2003．日本再生医療学会

山下 潤：「ヒト ES 細胞と再生医療」血液・免疫・腫瘍，8：19-26, 2003．メディカルレビュー社

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Yamashita J.: Vascular development in ES cell differentiation system. Endothelome Conference 2003(2003.2.22. 小樽)

Yamashita J.: Cardiovascular development in ES cell in vitro differentiation system. Aso International Meeting (2003.5.16. 熊本)

山下 潤：ES 細胞を用いた心血管分化研究，Cardiovascular Science 研究会(2003.6.13. 東京)

山下 潤：ES 細胞を用いた血管の分化多様化機構の解析と血管再生，動脈硬化 update 2003(2003.6.14. 東京)

Yamashita J., Nishikawa SI.: Cardiovascular development in ES cell in vitro differentiation system using Flk1-positive mesodermal progenitors. 13th International Symposium on Atherosclerosis .(poster)(2003.9.28-10.2. 京都)

2) 講演・シンポジウム

山下 潤：ES 細胞を用いた心血管分化誘導と心血管再生への応用の可能性，第 9 回日本胎児心臓病研究会(特別講演)(2003.2.15. 兵庫県東浦町)

山下 潤：ES 細胞 in vitro 分化系を用いた血管発生機構の解析，東北大学加齢医学研究所シンポジウム(2003.2.19. 仙台)

山下 潤：ES 細胞と心血管再生，第 2 回日本再生医療学会シンポジウム「心筋再生の現況と将来」(2003.3.11. 神戸)

山下 潤：ES 細胞を用いた心血管分化誘導と再生医療，第 6 回日本組織工学会シンポジウム「循環器の再生医療」(2003.6.13. 東京)

山下 潤：ES 細胞による心血管再生の可能性，新潟ポート心臓フォーラム(特別講演)(2003.7.12. 新潟)

Yamashita J.: ES cell in vitro differentiation system for cardiovascular development. Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology(2003.8.21-23. Chuncheon, Korea)

山下 潤：ES 細胞を用いた血管分化・多様化システムと血管再生，第 51 回日本心臓病学会パネルディスカッション「血管新生治療における遺伝子治療と細胞治療：現状と未来」(2003.9.9. 東京)

山下 潤：ES 細胞における血管前駆細胞の分化・多様化と血管新生の機構，第 35 回日本動脈硬化学会シンポジウム(2003.9.27. 京都)

山下 潤：ES 細胞分化系による血管細胞分化・多様化メカニズムの解析，第 24 回日本炎症・再生学会シンポジウム「炎症と再生の接点 - 血管新生 - 」(2003.11.27. 京都)

技 術 部

Division of Technical Support

【研究支援概要】

再生医科学研究所における研究支援の一環として、2002 年 10 月 17 日の教授会の承認を得て技術部が設置された。以後 2003 年 12 月末までに 7 分野 141 件の依頼があり、以下の病理組織標本作製をおこなってきた。

- ・パラフィン切片作製，凍結切片作製，ブロックの作製，脱灰標本の作製
- ・一般染色(Hematoxylin-Eosin)
- ・特殊染色(Azan, Elastica-Van Gieson, PAS, Alcian blue, Toluidine blue, Luxol fast blue, Grocott's)
- ・免疫染色

連続切片の作製，薄切部位の指定，染色濃度等々，研究者の方々と直接話し，できるかぎりの要望に答えてきた。一方，さらなる技術向上をめざし，学会，研修会に参加し，発表，技術交流をおこなってきた。今後とも病理組織標本作製を通して研究支援をおこなっていききたい。

【業績目録】

◆ 学会，研究発表 ◆

小岸久美子，松下隆壽，出口央士：再生医科学研究所技術部について．京都大学技術職員研修(専門研修Ⅰ)2003.2.6. 京都)

出口央士，松下隆壽，小岸久美子：南部共同実験動物施設について．京都大学技術職員研修(専門研修Ⅰ)2003.2.6. 京都)

郭 占軍，森 政之，付 笑影，李 桂馨，是永龍己，松下隆壽，小岸久美子，細川昌則，樋口京一：マウスアミロイドーシス抑制遺伝子の解析．第 92 回日本病理学会(2003.4.23. 福岡)

是永龍己，付 笑影，森 政之，松下隆壽，内木宏延，細川昌則，樋口京一：垂直伝播によるマウス老化アミロイドーシス発症促進．第 92 回日本病理学会(2003.4.23. 福岡)

Chiba, Y., Yamashita, Y., Hirayoshi, K., Ueno, M., Fujisawa, H., Akiguchi, I., Matsushita, T., Kogishi, K., Satoh, M., Shimada, A. and Hosokawa, M. : Mitochondrial Alterations and a Higher Oxidative Status in Cultured Fibroblast-like Cells from Senescence-accelerated Mice. The Second International Conference on Senescence : The SAM Model(2003.7.22. Sapporo)

Fujisawa, H., Shimizu, M., Kumagai, N., Sakurai, A., Chiba, Y., Yamashita, Y., Matsushita, T., Kogishi, K., Takagi, Y. and Hosokawa, M. : Identification of the Loci Regulation the Regression or Persistence of a Hyaloid vascular System in Mice. The Second International Conference on Senescence : The SAM Model(2003.7.22. Sapporo)

Toichi, E., Matsushita, T., Higuchi, K., Hosokawa, T., Hosokawa, M. and Hosono, M. : Relationships between Immune Activities, Senile Amyloidosis and Life-span in Hybrids After Crossing the Parental Strains of SAMP1 and B10 BR Mice. The Second International Conference on Senescence : The SAM Model(2003.7.22. Sapporo)

Fu, X., Korenaga, T., Xing, Y., Fu, L., Guo, Z., Matsushita, T., Hosokawa, M., Naiki, H., Mori, M. and Higuchi, K. :
Induction of AAPOAI and AA Amyloidosis by the Injection of Various Amyloid Fibrils. The Second
International Conference on Senescence : The SAM Model (2003.7.22. Sapporo)

Shoji, M., Matsushita, T., Higuchi, K., Honda, Y. and Hosokawa, M. : Senile Ocular Amyloidosis in SAM and BALB/c
Strains of Mice. The Second International Conference on Senescence : The SAM Model (2003.7.22. Sapporo)

**松下隆壽，小岸久美子：ラットにおける大腿骨及び胸骨の脱灰標本作製について．実験病理組織技術研究会第4回
関西西部会病理技術研修会(2003.9.12. 大阪)**

**小岸久美子，松下隆壽：マウスにおける大腿骨及び胸骨の脱灰標本作製について．実験病理組織技術研究会第4回
関西西部会病理技術研修会(2003.9.12. 大阪)**

4 . 学術集会

4 - 1 京都大学再生医科学研究所学術講演会 「新しい再生医学に向けて」

(2003.2.5 キャンパスプラザ京都)

開会挨拶	再生医科学研究所長	山岡 義生
第1部		
「bHLH 因子 Hes-1 による細胞分化制御」		
「細胞膜シグナル分子複合体の動的形成と活性化の1分子可視化解析」	京都大学ウイルス研究所	影山 龍一郎
「細胞はどのようにして動き、形を作るのか？」	名古屋大学大学院理学研究科	楠見 明弘
「プラナリアに再生のしくみを学ぶ」	東京大学医科学研究所	竹縄 忠臣
	理化学研究所・発生再生総合研究センター	阿形 清和
第2部		
「試験管内での脳組織分化」		
「間葉系幹細胞の部分全能性と、その細胞移植における病態病理」	京都大学再生医科学研究所	笹井 芳樹
「HGF 補充に基づく組織再生の意義とメカニズム」	国立成育医療センター	梅澤 明弘
	大阪大学大学院医学系研究科	松本 邦夫
第3部		
「mTAS (micro Total Analysis System) の生物学研究への応用」	京都大学大学院工学研究科	小寺 秀俊
「実験動物の核移植クローン技術の現状について」	理化学研究所・バイオリソースセンター	小倉 淳郎
「生き物と人工物との境界のデザイン」	京都大学再生医科学研究所	岩田 博夫

京都大学再生医科学研究所 開所5周年記念シンポジウム

(2003.10.6 京大会館)

開会挨拶	再生医科学研究所長	中辻 憲夫
第1部		
「小胞体におけるタンパク質の folding と品質管理」	京都大学再生医科学研究所教授	永田 和宏
「神経細胞分化の分子機構とその系統的制御」	理化学研究所・発生再生総合研究センター・グループディレクター	笹井 芳樹
「制御性T細胞による移植免疫寛容の誘導」	京都大学再生医科学研究所教授	坂口 志文
第2部		
「再生医学の過去と未来」		
特別講演「幹細胞生物学の血管医学への応用」	財団法人田附興風会医学研究所北野病院長 (京都大学再生医科学研究所前所長)	山岡 義生
	理化学研究所・発生再生総合研究センター・チームリーダー	浅原 孝之
第3部		
「ヒトES細胞株の樹立と再生医学」		
「末梢神経の再生」	京都大学再生医科学研究所長	中辻 憲夫
「シミュレーション医工学は機能再生医療に貢献する!？」	京都大学再生医科学研究所教授	清水 慶彦
	京都大学再生医科学研究所教授	堤 定美

4 - 2 セミナー

開催日	講演者・所属	演 題	セミナー名	主催分野
2003. 1.17	Randal J. Kaufman University of Michigan, USA	The Physiological Role of the Unfolded Protein Response	第108回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003. 2.21	森 正敬 熊本大学医学部	NO および小胞体ストレス誘導性アポトーシスと病気	第109回 細胞生物学ジョイントセミナー	細胞機能調節学分野
2003. 2.21	徳永 文裕 大阪市立大学大学院医学研究科	タンパク質の品質管理とユビキチンシステム	第109回 細胞生物学ジョイントセミナー	細胞機能調節学分野
2003. 2.27	Robert Tanguay Universite Laval, Canada	Small Heat Shock Proteins and aging	第110回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003. 3. 3	横田 義史 福井医科大学	細胞の分化制御における Id2 の機能	免疫学セミナー	再生免疫学分野
2003. 3. 3	北村 俊雄 東京大学	レトロウイルスベクターを利用した発現クローニング法	免疫学セミナー	再生免疫学分野
2003. 3. 3	東京工業大学 和田 忠士	mRNA 合成速度の分子スイッチ	生体微細構造学セミナー	生体微細構造学分野
2003. 3. 4	浅野雅秀 金沢大学大学院医学系研究科 付属動物実験施設	糖転移酵素遺伝子ノックアウトマウスを用いた糖鎖機能の解析	再生増殖制御学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 3. 6	松浦 成昭 大阪大学医学部	細胞接着と病気	再生増殖制御学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 3. 7	中別府雄作 九州大学生体防御医学研究所	活性酸素ストレスによるゲノム障害とゲノム応答(1)核酸の酸化損傷とその防御機構：発ガンから神経変性まで(2)JUN/FOS とシグナル伝達系：ストレス応答と初期発生	生体微細構造学セミナー	生体微細構造学分野
2003. 3.10	平田 普三 京都大学ウイルス研究所・研究員	時計遺伝子としての転写因子 Hes1、Hes7 発生を制御する分子時計	第111回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003. 3.13	Anthony Ratcliffe Synthasome Inc.,	The research and development pathway to market for tissue engineering : success or failure?,	再生医科学研究所セミナー	組織修復材料学分野
2003. 3.24	上田 卓也 東京大学大学院新領域創成科学研究科	新規生体外蛋白質合成系 PURE システムの可能性	第112回 細胞生物学ジョイントセミナー	細胞機能調節学分野
2003. 3.24	加藤 晃一 名古屋市立大学大学院薬学研究科	構造グライコミクスへのアプローチ	第112回 細胞生物学ジョイントセミナー	細胞機能調節学分野
2003. 6.10	Shireen Lamande Univ. of Melbourne, Australia	Molecular genetics of musculoskeletal disorders	第113回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003. 6.16	永田 和宏 再生医科学研究所	タンパク質の合成・再生・品質管理	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 6.23	坂口 志文 再生医科学研究所	免疫応答の制御：自己免疫、腫瘍免疫、移植免疫の共通基盤について	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 6.30	中辻 憲夫 再生医科学研究所	ES 細胞・生殖細胞系列の発生分化と再生医学	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 7. 1	Richard Morimoto Northwestern Univ., USA	The Heat Shock Response : Sensing Protein Damage and Aging	第114回 細胞生物学シリーズセミナー(1)The Biology of Chaperone Networks in Biology and Disease-	細胞機能調節学分野
2003. 7. 8	Richard Morimoto Northwestern Univ., USA	Molecular Chaperones in Protein Folding and Stress Signaling	第114回 細胞生物学シリーズセミナー(2)The Biology of Chaperone Networks in Biology and Disease-	細胞機能調節学分野

開催日	講演者・所属	演 題	セミナー名	主催分野
2003. 7.14	開 祐司 再生医科学研究所	軟骨分化制御と間接軟骨の再生修復	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 7.15	Richard Morimoto Northwestern Univ., USA	Protein Misfolding and Neurodegenerative Diseases	第114回 細胞生物学シリーズセミナー(3) The Biology of Chaperone Networks in Biology and Disease-	細胞機能調節学分野
2003. 7.18	岡崎 正之 広島大学大学院医歯薬学総合研究科	生体材料としてのアパタイトを探索	再生医科学研究所セミナー	組織修復材料学分野
2003. 9. 8	國貞 隆弘 岐阜大学医学研究科	ES 細胞からの組織・器官誘導の可能性	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 9.11	石田 昭人 京都府立大学人間環境学部環境情報学科	表面プラズモン増強電場を用いる蛍光分析の基礎と応用	再生医科学研究所セミナー	組織修復材料学分野
2003. 9.22	長澤 丘司 再生医科学研究所	ケモカインによる高次機能形成における細胞動態の制御	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003. 9.29	笹井 芳樹 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター	末梢神経の初期発生制御：神経堤細胞の分化決定	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003.10.20	中内 啓光 東京大学医科学研究所	幹細胞の自己複製と可塑性	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003.10.27	田中 啓二 東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所	蛋白質分解から生命の謎に迫る	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003.10.29	Martin J. Humphries Univ. of Manchester, UK	Coordinate roles for integrin and syndecan signaling in cell adhesion	第 115 回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003.11.10	西野 一三 国立精神・神経センター神経研究所	遺伝性筋疾患の分子病態解析 - 治療法開発を目指して	細胞工学・再生生物学セミナー	再生増殖制御学分野
2003.11.13	兵頭 明夫 琉球大学医学部脳神経外科	脳神経血管内治療 - その有効性と問題点 -	再生医科学研究所・組織修復セミナー	組織修復材料学分野
2003.11.15	Judy White Univ. of Virginia	ADAM Proteins: Origins and Current Questions	「細胞分化における細胞間相互作用の変換機構」セミナー	再生増殖制御学分野
2003.11.15	Roy A. Black Amgen Inc.	The TNF-alpha converting enzyme as a target in rheumatoid arthritis	「細胞分化における細胞間相互作用の変換機構」セミナー	再生増殖制御学分野
2003.11.17	Joshua Sakon Dept. of Chemistry and Biochemistry University of Arkansas	A collagen-binding domain with novel calcium-binding motif controls domain orientation	生体微細構造学セミナー	生体微細構造学分野
2003.11.25	船津 高志 早稲田大学理工学部物理学科	1 分子蛍光イメージ法による生体分子機能解析	第 116 回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003.11.27	山中 伸弥 奈良先端科学技術大学院大学遺伝教育研究センター	ES 細胞関連遺伝子群 ECAT の同定と解析	再生医科学研究所セミナー	発生分化研究分野・再生増殖制御学分野
2003.11.28	古川 貴久 大阪バイオサイエンス研究所	網膜発生の分子機構	再生医科学研究所セミナー	発生分化研究分野・再生増殖制御学分野
2003.12.22	郷 通子 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部	ゲノムとタンパク質の間にある深い溝：イントロンの存在をめぐって	第 117 回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2003.12.25	横田 義史 福井大学	生体での分化増殖制御における Id2 の機能	免疫学セミナー	再生免疫学分野
2003.12.26	大崎 茂芳 奈良県立医科大学	コラーゲン線維は生体組織でどのように並んでいるのか？ - マイクロ波方式を用いて -	再生医科学研究所・組織修復セミナー	組織修復材料学分野

4 - 3 研究発表会

第17回再生医工学若手研究発表会 (2003 3.12)

発表者	所属	演題
1. 東 高 志	シミュレーション	DynamicMR 撮像 - 4 次元 MRI による関節運動解析 -
2. 青 山 朋 樹	組 織 再 生	軟骨細胞における epigenetic な制御メカニズムの研究
3. 水 野 泰 行	シミュレーション	MRI を用いた荷重下膝関節半月板運動解析
4. 有 馬 祐 介	組 織 修 復	表面プラズモン共鳴イメージング装置を利用した材料モデル表面に対する補体タンパク吸着の解析
5. 青 山 輝 義	生 体 材 料	マトリックスメタロプロテアーゼ遺伝子の局所徐放による糖尿病マウスにおける腎硬化症の予防
6. 姜 有 峯	シミュレーション	姿勢が及ぼす腰椎への影響の解析
7. 稲 継 泰 之	生 体 材 料	基材表面のハイドロキシアパタイト処理による細胞増殖・分化への効果
8. 伊比井 崇 向	組 織 修 復	マウス ES 細胞由来細胞集合体のマイクロカプセル化
9. 川 上 理	生 体 材 料	Fibroblast seeding coil による脳動脈瘤治療の試み
10. 伊 藤 忠 雄	臓 器 再 建	腹腔内自律神経系の再生
11. 金 井 恵 理	生 体 材 料	成体幹細胞からの心筋再生
12. 金 度 勲	器 官 形 成	Cerebral function and behavior in a rat model of Parkinson's disease after transplantation of dopamine neurons differentiated from ES cells
13. 海 野 賢 司	臓 器 再 建	大腸の再生
14. 小 野 浩 平	組 織 修 復	表面プラズモン共鳴イメージング装置による異なる官能基を有する表面へのウシ血清アルブミン吸着挙動の解析
15. 尾 関 真	生 体 材 料	架橋密度の異なるゼラチンハイドロゲルの生体吸収性
16. 大 山 隆 城	組 織 修 復	金ステントの試作
17. 岡 崎 友 樹	生 体 機 械	磁気センサと Neural network によるカテーテル先端部の位置・姿勢検出システム
18. 兼 松 明 弘	生 体 材 料	コラーゲン性足場材料の増殖因子徐放担体としての利用
19. 岸 上 義 弘	臓 器 再 建	犬脊髄損傷モデルの作成と画像による評価
20. 岡 本 行 広	組 織 修 復	Dextran sulfate-gpoly(isopropylacrylamide) の合成とその吸着表面の特性
21. 奇 梅 日 更	器 官 形 成	PVA を用いたシート型カプセル化ラット膵島の in vitro における機能評価
22. 鬼 頭 孝 之	生 体 機 械	ステントの柔軟性に関する研究
23. 吳 本 晃 一	臓 器 再 建	歯髄の再生
24. 高 寅 甲	組 織 修 復	抗体マイクロアレイを用いた神経幹細胞膜抗原の分析
25. 古 賀 ま り	器 官 形 成	骨髄細胞を用いた膵再生に関する研究
26. 丸 井 晃	生 体 材 料	bFGF による虚血下肢での血管新生
27. 坂 田 直 昭	器 官 形 成	カプセル化人工膵移植は糖尿病性腎症の発症を予防もしくは遅延させることができるか?
28. 神 原 裕	生 体 材 料	Which is a more effective angiogenetic therapy, bone marrow implantation or control-released basic fibroblast growth factor administration?
29. 白 水 泰 昌	器 官 形 成	UW solution を用いたラット膵島の冷保存後の viability の比較検討
30. 嶋 田 英 輝	組 織 修 復	マウス ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導条件の検討
31. 城 潤 一 郎	生 体 材 料	キレート残基をもつプルランとプラスミド DNA との金属配位複合体化
32. 竹 中 慎	生 体 機 械	超音波を用いた関節軟骨の評価 - 動物実験モデルを用いた検討 -
33. 大 橋 徹 夫	生 体 機 械	軟骨の超音波特性と力学特性との関係
34. 高 橋 一 裕	生 体 材 料	乳酸オリゴマーグラフト化ゼラチンの作製
35. 高 橋 充	臓 器 再 建	イヌに対する MR angiography
36. 西 出 拓 司	組 織 修 復	脳動脈瘤治療用器質化コイルの開発
37. 田 中 郷 史	臓 器 再 建	ポリグリコール酸? コラーゲンでできた神経接合管の力学特性
38. 友 重 龍 治	生 体 材 料	異なるカチオン化ゼラチンハイドロゲルによる plasmid DNA の徐放
39. 長 内 広 哲	シミュレーション	人工関節軟骨用 Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogel の生体軟骨に対する損傷評価
40. 中 村 勝	組 織 修 復	PA6 コンディショントメディアムによる ES 細胞の神経細胞への分化誘導
41. 根 本 正	臓 器 再 建	消化管からの酸素は吸収されるか ~ お尻人工呼吸器の夢 ~
42. 広 瀬 文 隆	生 体 材 料	脈絡膜新生血管に対する網膜下ドラッグデリバリーシステム
43. 糸 井 真 一	臓 器 再 建	細胞移植による肝再生
44. Hossein Hosseinkhani	生 体 材 料	In vitro gene transfection by cationized derivatives of an artificial protein with repeated RGD sequences, Pronectin.

発表者	所属	演題
45. 野田澤 俊 介	臓器再建	気管の力学物性
46. 堀 田 裕 司	生体材料	ポリアクリルアミド/ポリアクリル酸系傾斜機能材料の作製
47. 河 南 里江子	臓器再建	ヒト気道上皮 organ culture model における <i>Aspergillus fumigatus</i> の侵入形態
48. 櫛 引 俊 宏	生体材料	徐放化 HGF/NK4 plasmid DNA による肺癌腹膜播種の抑制効果
49. 木 村 大	臓器再建	消化管の再生
50. 小 西 光 長	生体材料	縫合貼付かつ薬物徐放が可能な CDDP 含浸 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討
51. 福 田 正 順	臓器再建	犬脊髄損傷モデルにおける組織と機能の評価
52. 松 村 和 明	シミュレーション	人工歯根周囲における歯根膜再生に関する研究
53. 牧 剛 志	組織修復	抗体アレイを用いたインスリン産生細胞表面マーカーの探索
54. Mackova Hana	生体機械	Effect of Sliding Direction on Wear Properties of Ceramics for Joint Prostheses-Flat Conditions
55. 井 上 祐 利	臓器再建	歯根膜再生型インプラントの開発
56. マルコ 寛名嘉	生体機械	The Influence of Electromechanical Effects of Bone and Articular Cartilage in the Lubrication of Synovial Joints
57. 松 下 佳 代	生体材料	ゼラチンハイドロゲルの生体吸収性に与える架橋方法の影響
58. 安 良 興	組織再生	不死化骨髄間質細胞を用いた研究
59. 吉 谷 信	臓器再建	PGA コラーゲン製人工神経管による犬横隔神経の再生
60. 北 郷 明 成	生体材料	Platelet-rich plasma (PRP) 含浸ゼラチンハイドロゲルによる骨再生
61. 鳥 羽 紀 成	臓器再建	イヌ肺気腫モデルの作成と評価
62. 三 村 章 夫	生体機械	人工関節材料としてのアルミナ・炭化珪素などのコンポジットセラミックの摩耗特性
63. A. Magrúfov	臓器再建	Regeneration of thyroid gland, in vitro study
64. 安 田 佳 織	生体材料	脂肪由来細胞のポリエチレンテレフタレート不織布への接着
65. 岡 本 健	組織再生	Formation of epithelial structure in synovial sarcoma is regulated by Wnt-Frizzled pathway
66. 山 城 大 泰	生体材料	脂肪前駆細胞と bFGF の徐放を用いた脂肪組織再生
67. 中 原 貴	臓器再建	歯根膜由来細胞とコラーゲンスポンジを用いた歯周組織の in situ Tissue Engineering
68. 山 原 研 一	生体材料	マウス下肢虚血モデルにおける ES 細胞由来血管前駆細胞の血管再生への寄与
69. 茂 野 啓 示	臓器再建	下顎神経の再生
70. 松 浦 稔	生体材料	炎症性腸疾患に対する basic FGF 治療の有効性の検討
71. 山 内 文 生	組織修復	マイクロパターン化 SAM への遺伝子の固定化と細胞へのトランスフェクション
72. 波多野 武 人	生体材料	Acceleration of aneurysm healing by controlled release of basic fibroblast growth factor with the use of polyethylene terephthalate coils coated with gelatin hydrogel
73. 松 野 智 宣	臓器再建	Regeneration of Alveolar Bone by 3D Cultured β -TCP/Collagen Sponge
74. 平 岡 陽 介	生体材料	生体吸収性繊維により力学補強したコラーゲンスポンジの作製
75. 吉 迫 智	組織修復	siRNA マイクロアレイのための GFP 発現阻害モデル実験
76. 井 上 幸 子	生体材料	bFGF の脂肪前駆細胞の分化と増殖に与える影響

4 - 4 学術講演会・シンポジウム・研究会

医工学フォーラム (2003 2 26 . 京大会館 主催 医工学フォーラム 篠 義人)

- | | |
|--|-------------------------------------|
| 1. 遺伝子 DDS 技術の組織再生医療への利用 | 田畑 泰彦 (生体材料学分野) |
| 2. 表面プラズモン共鳴イメージング装置の試作とその細胞アレイへの展開 | 岩田 博夫 (組織修復材料学分野) |
| 3. 再生医療から新産業へ | 三宅 淳 (生体物性学分野) |
| 4. シミュレーション医工学における新しい MR (Magnetic Resonance : 磁気共鳴) の応用研究 | 堤 定美 (シミュレーション医工学分野) |
| 5. 超音波による生体組織の計測診断技術 | 池内 健 (生体機械工学分野) |
| 6. 荷重支持組織再生のための力学的環境設計 | 富田 直秀 (国際融合創造センター創造部門
(生体・医療工学)) |
| 7. 神経の再生 | 清水 慶彦 (臓器再建応用分野) |
| 8. 脾臓再生医療の現状と展望 | 角 昭一郎 (器官形成応用分野) |
| 9. 骨髄間質由来細胞のもつ多分化能について | 戸口田淳也 (組織再生応用分野) |

特別講演

メニコンの再生医療への取り組み

田中 英成 (株式会社メニコン 代表取締役社長)

特定領域研究「生殖細胞系列の制御機構と発生工学」による公開シンポジウム 「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」

(2003 2 6 京都キャンパスプラザ 主催: 発生分化研究分野)

(セッション 1) 生殖細胞の発生プログラム (座長: 中辻 憲夫)

- | | |
|--------------------------------|----------------------|
| 1. 「生殖細胞の発生運命の制御機構」 | 松居 靖久 (大阪府母子センタ) |
| 2. 「哺乳類全能性細胞・生殖細胞における遺伝子発現の研究」 | 阿部 訓也 (理研バイオリソースセンタ) |
| 3. 「始原生殖細胞成立のシグナル」 | 仲野 徹 (阪大微研) |
| 4. 「培養系における生殖細胞分化」 | 野瀬 俊明 (三菱生命研) |

(セッション 2) 生殖細胞の分化プログラム (座長: 西宗 義武)

- | | |
|--------------------------------|--------------------|
| 5. 「雌雄生殖細胞の分化プログラム」 | 中馬新一郎・中辻憲夫 (京大再生研) |
| 6. 「in vitro における卵子分化プログラムの再生」 | 尾畑やよい (群馬大遺伝子実験施設) |
| 7. 「生殖幹細胞の維持と分化の制御機構」 | 蓬田健太郎 (阪大微研) |
| 8. 「凍結精巣バンクの開発」 | 篠原 隆司 (京大医) |
| 9. 「生殖細胞における性の決定」 | 岡部 勝 (阪大遺伝子施設) |

(セッション 3) 再プログラム化とクローン動物 (座長: 河野 友宏)

- | | |
|------------------------------------|----------------------|
| 10. 「化学的染色体除去法を用いた体細胞クローン動物の作出」 | 角田 幸雄 (近畿大農) |
| 11. 「クローンマウスにおける核移植技術の問題点と応用」 | 若山 照彦 (理研発生再生センタ) |
| 12. 「体細胞クローンマウスの正常と異常 - 表現型を中心として」 | 小倉 淳郎 (理研バイオリソースセンタ) |

(セッション 4) 再プログラム化とエピジェネティクス (座長: 小倉淳郎)

- | | |
|--|--------------------|
| 13. 「体細胞・生殖細胞クローンにおける遺伝子発現」 | 石野 史敏 (東工大遺伝子実験施設) |
| 14. 「DNA メチル化コード: 個体発生・細胞分化のエピジェネティクス」 | 塩田 邦郎 (東大農) |
| 15. 「DNA メチル化パターン制御機構と再プログラム化における役割」 | 岡野 正樹 (理研発生再生センタ) |
| 16. 「生殖細胞における一次インプリントとメチル化の獲得機構」 | 佐々木裕之 (遺伝研) |

文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「細胞分化における細胞間相互作用の変換機構」 平成15年度公開レクチャー「細胞の分化と組織構築のダイナミズム」

(2003 .11 .14 芝蘭会館、主催: 再生増殖制御学)

- ADAM Proteins : Origins and Current Questions
Judy White Department of Cell Biology, University of Virginia., USA.
- The TNF-alpha converting enzyme as a target in rheumatoid arthritis
Roy A. Black Department of Cell Biology, Amgen Inc., USA. Associate Director

**文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「細胞分化における細胞間相互作用の変換機構」
平成 15 年度 公開シンポジウム「細胞の分化と組織構築のダイナミズム」
(2003.12.9 芝蘭会館、主催：再生増殖制御学)**

1. 細胞質ポリ A ポリメラーゼ TPAP による精細胞分化制御の分子機構
馬場 忠(筑波大学)
2. ケモカイン CXCL12 と高次機能形成における細胞動態の制御
長澤 丘司(京都大学再生医科学研究所)
3. C. elegans の細胞移動を制御する分泌型 ADAM プロテアーゼ MIG-17
西脇 清二(理化学研究所発生・再生科学総合研究センター)
4. ショウジョウバエ気管細胞のダイナミクス：動く細胞は行き先をいかにして知るか？
林 茂生(理化学研究所発生・再生科学総合研究センター)
5. 細胞間接着装置から見た上皮組織構築
永淵 昭良(熊本大学発生医学研究センター)
6. 組織構築における膜型 ADAM プロテアーゼの役割
瀬原 淳子(京都大学再生医科学研究所)

**2003 Japan-Taiwan Symposium on Stem Cell and Tissue Engineering
(Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University Saturday 8 March, 2003)**

Registration

Opening Ceremony

Hiroo Iwata(Kyoto University)

(Chair persons : Akio Kishida and Yao-Chang Chen)

Engraftment and hepatocyte differentiation of human cord blood cells in SCID mice with chemically induced liver injury

Ming-Kwang Shyu, Fon-Jou Hsieh, Chung-Liang Chien, Hui-Ling Chen

Possible application of somatic genome reprogramming to regenerative therapies

Takashi Tada

Intermediate filaments : Good markers for neural stem cell differentiation

Chung-Liang Chien, Jin-Chung Shih, Ping-Chung Chen, Fong-Jou Shieh, Norio Nakatsuji

Antibody microarray for parallel analysis of neural stem cell surface markers expressed during differentiation

In-Kap Ko, Koichi Kato, Hiroo Iwata

(Chair persons : Makoto Kodama and Da-Ming Wang)

Biomaterials and tissue engineering : how to prepare an osteogenic bone graft?

Feng-Huei Lin

Transcriptome analysis of early chondrogenesis in ATDC5 cells induced by bone morphogenetic protein 4

Chisa Shukunami

The application of Chinese herbal medicine on bone tissue engineering

Jui-Sheng Sun, Chun-Yu Lin, Guo-Chung Dong, Shiow-Yunn Sheu, Feng-Huei Lin, Yng-Jiin Wang, Li-Ting Chen

(Chair persons : Hiroo Iwata and Yuan-Haun Lee)

Stem cell therapy in myocardial failure : What will be the best clinical model?

Yao-Chang Chen

A new vascular prosthesis coated with polyamino-acid urethane copolymer(PAU)to enhance endothelialization

Makoto Kodama

Electrochemistry of organic-inorganic layered materials with cell-membrance like structure of biological interest

Yuan-Haun Lee

(Chair persons : Sadami Tsutsumi and Feng-Huei Lin)

Trial toward the regeneration of periodontal tissues around titanium implant

Sadami Tsutsumi, Kazuaki Matsumura, Noriharu Ikumi, Naoki Nakajima, Chunyan Peng, Suong-Hyu Hyon

Immobilization of RGD to improve the biocompatibility of chitosan and PLLA scaffolds

Ming-Hua Ho, Da-Ming Wang, Lein-Tuan Hou, Hsyue-Jen Hsieh

A novel decellularized technology for preparing a tissue engineering scaffold

T. Fujisato, A. Kishida, M. Hasegawa, S. Numata, K. Niwaya, T. Nakatani, K. Yamada, S. Kitamura

Closing Ceremony

Feng-Huei Lin(National Taiwan University)

5. 協議員・教職員名簿

京都大学再生医科学研究所協議員

塩田 浩平（京都大学大学院医学研究科教授）
中尾 一和（京都大学大学院医学研究科教授）
荒木 光彦（京都大学大学院工学研究科教授）
西田 栄介（京都大学大学院生命科学研究科教授）
伊藤 紳三郎（京都大学大学院工学研究科教授）
鍋島 陽一（京都大学大学院医学研究科教授）

京都大学再生医科学研究所職員等（平成16年1月1日現在）

所長 中辻 憲夫

生体機能学研究部門

細胞機能調節学分野

教授：永田和宏 助教授：細川暢子 助手：久保田広志 講師（非常勤）：関口清俊，和田郁夫
技官：島田道子 教務補佐員：長束優子 事務補佐員：石田玉美 研究補助員：中川澄江，金森和美，門田真奈
大学院生：丸谷寿裕，森戸大介，松岡泰弘，中村純治，小田裕香子，久保田進，長澤孝治，平尾和義，北村 朗
博士研究員：本間貴之

生体微細構造学分野

講師：平芳一法 大学院生：法昌賢一

生体機能調節学分野

教授：坂口志文 助手：野村尚史，高橋武司（休職） 講師（非常勤）：坂口教子，清水淳
技能補佐員：石田嘉子 教務補佐員：山本恵津子
大学院生：西村英士，高 貴範，西岡朋尚，瀬戸口留可，八木治彦，吉富啓之，田中 聡，小野昌弘，虎谷輝正，
廣田圭司，中村恭子，長濱寛二，杉本直志
研究員：Zoltan T. Fehervari，山口智之

シミュレーション医工学分野

教授：堤 定美 助教授：玄 丞然 講師（非常勤）：南部敏之，茂木伸夫，菅原明喜
教務補佐員：姜 有峯，東 高志 事務補佐員：上村幸代，小柴里美 技術補佐員：橋本麻美
外国人研究者：文 成日 大学院生：金 奉哲，李 英哲，鄭 德泳，姜 有峯
研究生：土肥健二，井汲憲治，城真理子，飯塚容子 特別研究派遣学生：韓 龍海
研修員：中村昌幸，村上正裕 研究員：中島直喜，三島昭宏，田村雅巳，松村和明，須賀井一

生体再建学分野（国内客員）

教授：松崎文雄 助教授：小阪美津子

生体組織工学研究部門

生体分子設計学分野

教授：開 祐司 助教授：宿南知佐 講師（非常勤）：近藤 淳，手塚建一，渥美忠男
教務補佐員：滝本 晶 事務補佐員：久保友紀恵 技術補佐員：角花美和
大学院生：佐藤孝治，三浦重徳，伊東良太，泉真一郎，羽二生章 研究員：西崎有利子

生体材料学分野

教授：田畑泰彦 助手：山本雅哉 COE 研究員：兼松明弘

事務補佐員：高崎みゆき

大学院生：小西光長，川上 理，金谷 勲，尾関 真，櫛引俊宏，井上幸子，木村 祐，城瀬一郎，友重龍治，
安田佳織，劉 健，高本智紹，柳瀬 薫，藤川智行

研究員：Hossein Hosseinkhani，稲継泰之，山田正敏，金井夏子 研修員：北郷明成

組織修復材料学分野

教授：岩田博夫 助教授：加藤功一 講師(非常勤)：宇山良公，星野一正，清水幸雄

事務補佐員：鈴木義子

大学院生：嶋田英輝，牧 剛志，山内文生，有馬祐介，山添泰宗，伊比井崇向，吉迫智，森安健太，藤田聡，藤本裕之
民間等共同研究員：戸田満秋 研究機関研究員：村上能庸，佐藤秀樹

生体物性学分野（国内客員）

教授：三宅 淳

再生統御学研究部門

発生分化研究分野

教授：中辻憲夫 助教授：齋藤哲一郎 助手：多田 高 リサーチアソシエイト：中馬新一郎，長谷川光一，木村博信

日本学術振興会特別研究員：水谷健一， 民間等共同研究員：多田政子，豊田吉統 教務補佐員：佐波理恵，森部江美子

笠井慎也，久世敦美 技術補佐員：田中ます子，渡辺仁美 事務補佐員：酒井睦美，廣富ひとみ

大学院生：秦野慎矢，庄司昌伸，藤本康子，細川美穂子，黒田貴雄，山口新平 留学生：Cowan, Aaron Balfour

再生誘導研究分野

講師：河崎洋志(休職)

再生増殖制御学分野

教授：瀬原淳子 助手：栗崎知浩 COE 研究員：若月修二

事務補佐員：倉澤祥子

大学院生：正木めぐみ，遠藤真輝，入江直樹，湯本法弘，小松紘司，東利圭，横関智一

CREST 研究員：増田亜紀

再生免疫学分野

助教授：喜納辰夫 助手：藤本真慈 講師(非常勤)：切替照雄，北村俊雄

研究生：折橋 郁

生体システム医工学研究部門

医用システム工学分野

選考中

生体機械工学分野

教授：池内 健 助手：都賀谷紀宏

事務補佐員：新川知子

大学院生：大橋徹夫，鬼頭孝之，岡崎友樹，竹中 慎，高嶋一登，Marco Naka,

研究生：Hana Mackova

生体システム制御学分野

教授：長澤丘司 助手：常世田好司 リサーチアソシエイト：荒 敏昭

技術補佐員：佐藤瑞穂

大学院生：杉山立樹，三上 栄，星野託広，仁本健太

再生医工学分野（外国人客員）

選考中

再生医学応用研究部門

生体修復応用分野

（欠員中）

組織再生応用分野

教授：戸口田淳也 講師（非常勤）：速水 尚

事務補佐員：安田尚代

大学院生：青山朋樹，岡本 健，西庄功一，石部達也，安良 興，柴田弘太郎，嶋靖子，梁鉞堅

器官形成応用分野

助教授：角昭一郎 講師（非常勤）：佐竹克介，砂村真琴，日裏彰人，塚田敬義，宮本正章

事務補佐員：森かな子，大谷純子

大学院生：櫻井智徳，佐竹 晃，奇梅日更，漆 智，金 度勲

研究生：白水泰昌，星野順一，蔡 毅，金 鳳柱 特別研究生：坂田直昭

研修員：古賀まり 研究員：顧 元駿

臓器再建応用分野

教授：清水慶彦 助教授：中村達雄 講師（非常勤）：早川克己，稲田有史，井上祐利

事務補佐員：矢延聡枝 技術補佐員：西川裕美，苑田佳子

大学院生：吉谷 信，福田正順，伊藤忠雄，木村 大，海野賢司，金 修一，森野茂行，中田 顕

研究生：糸井真一，河南里江子，岸上義弘，小林丈士

研修員：高橋 充，吳本晃一，松野智宣，茂野啓示，根本 正，鳥羽紀成

再生医学応用流動分野

（欠員中）

附属再生実験動物施設

施設長事務取扱（兼）：坂口志文

技官：出口央士

技能補佐員：古卿智英，人見博子，岸本好子，山尾勝美，石丸英典，細田 勝，西山尚之，川本悦子，柴田 豊，山崎幸子
渡辺知子，野宮真佑美，三上暢子

附属幹細胞医学研究センター

センター長（兼）：中辻憲夫

霊長類胚性幹細胞研究領域

助教授：末盛博文 産学官連携研究員：安近健太郎，角 智行

民間等共同研究員：山内香織，藤岡 剛 教務補佐員：後藤律子 大学院生：安田晋也，石井隆道

幹細胞分化制御研究領域

助教授：山下 潤 リサーチアソシエイト：万木貴美 研究員（共同研究員）：平岡美奈

大学院生（派遣研究学生）：柳堅徳 研究生：島津親志 技術補佐員：土井順子 事務補佐員：藤崎有貴

幹細胞加工研究領域

（欠員中）

技術部

技術専門官：松下隆壽 技術専門職員：小岸久美子

事務部

事務長：川端昭男

庶務掛長：吉村淳郎 主任：島本 博 技官：高沖悠子 事務補佐員：緒方康子，戸倉理恵子

研究協力掛長：勝部 力 主任：和田圭二 事務官：横田夏子 事務補佐員：中瀬安子

会計掛長：三上隆典 主任：原田晶夫 事務官：植田忠紘 技官：今井保代 事務補佐員：戸嶋素子

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University 2003

京都大学再生医科学研究所年報 2003

2004 年 3 月 20 日 印刷 2004 年 3 月 25 日発行

発 行 京都大学再生医科学研究所

京都市左京区聖護院川原町53 〒606-8507

印 刷 (株)北斗プリント社
